

**Alexsandra Valério**

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE POLI(UREIA-URETANO)  
VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO**

Tese submetida ao Programa de Engenharia Química  
e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal  
de Santa Catarina para a obtenção do Grau de  
Doutora em Engenharia Química  
Orientador: Prof. Dr. Cláudia Sayer  
Coorientador: Prof. Dr. Pedro H. H. Araújo

Florianópolis  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Valério, Alexsandra

Síntese de nanopartículas de poli(ureia-uretano) via  
polimerização em miniemulsão / Alexsandra Valério ;  
orientadora, Claudia Sayer ; co-orientadora, Pedro  
Henrique Hermes Araújo. - Florianópolis, SC, 2013.  
109 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Química.

Inclui referências

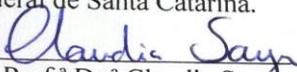
1. Engenharia Química. 2. Poli(ureia-uretano). 3.  
Nanopartículas. 4. Polimerização em miniemulsão. 5. In  
vitro. I. Sayer, Claudia. II. Henrique Hermes Araújo,  
Pedro. III. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

**Síntese de Nanopartículas de Poli(Uréia-Uretano) via  
Polimerização em Miniemulsão**

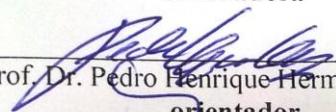
por

**Alexsandra Valério**

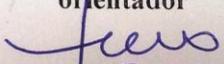
Tese julgada para obtenção do título de **Doutor em Engenharia Química**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos Químicos e Biotecnológicos** e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Claudia Sayet

**orientadora**

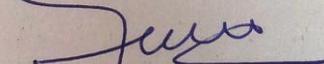
  
Prof. Dr. Pedro Henrique Hermes de Araújo

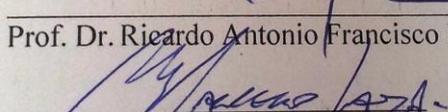
**orientador**

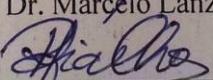
  
Prof. Dr. Ricardo Antonio Francisco Machado

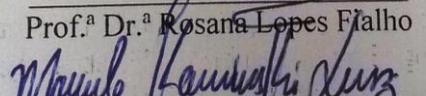
**coordenador**

**Banca Examinadora:**

  
Prof. Dr. Ricardo Antonio Francisco Machado

  
Prof. Dr. Marcelo Lanza

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosana Lopes Filho

  
Prof. Dr. Marcelo Kaminski Lenzi

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tatiany Jovita de Faria

**Florianópolis, 26 de Setembro 2013.**



Este trabalho é dedicado aos meus pais, e a todos aqueles que sempre estiveram ao meu lado ao longo da minha vida acadêmica.



## AGRADECIMENTOS

Embora uma Tese de Doutorado seja pela sua finalidade acadêmica, um trabalho individual, todos que trabalham com pesquisa, sabem que sozinhos não o fazem. O resultado deste trabalho só foi possível pela ajuda de algumas pessoas as quais desejo expressar aqui os meus sinceros agradecimentos.

Inicialmente agradeço aos meus orientadores Claudia Sayer e Pedro H. H. Araújo e Sandro da Rocha pela orientação, amizade, ajuda e principalmente por acreditarem no meu trabalho. Gostaria de agradecer também a todos os professores que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

Aos colegas do laboratório de controle de processos - LCP da UFSC pela amizade e boas risadas em todas as horas, por tornarem meus dias mais felizes e meu trabalho mais agradável! Aos amigos que me acolheram em seus laboratórios, especialmente em Porto Alegre, Aracajú e Detroit/USA. Aos bons amigos que fiz neste período, principalmente Nilva, Cris, Taisinha, Thais, Claudinha, Luana, Daniela, Claiton, André Poloni, Paulo, Diego, Fernanda, Vânia, Daniel, Sumant, Denise, Quian. Além dos amigos da minha vida Irede, Gustavo, Juliana F, Juliana C., Ana Luisa, Elton, Dariva, Fernanda C. e Pri que sei que sempre estarão ao meu lado e em meu coração, fica aqui meu muito obrigado!

Agradeço muito a minha família, que sempre me deu força e incentivo e que mesmo longe esteve sempre em pensamento e em meu coração, ao meu namorado André Sales que conheci na decisiva parte final do doutorado e mesmo assim me apoiou e esteve sempre ao meu lado quando a vida se mostrou cruel.

Agradeço a todos que de alguma forma estiveram comigo me ajudando ou não e foi principalmente com estes que aprendi muito sobre mim mesma, a vida e sobre pessoas o que possibilitou ainda mais meu amadurecimento.

Obrigada!



...''Deixe estar que o que for para ser vigora. Eu sou tão feliz. Vamos dividir os sonhos que podem transformar o rumo da historia''...

(Maria Gadu, trecho da música Encontro).



## RESUMO

Este trabalho envolve a síntese de nanopartículas de poli(ureia-uretano) via polimerização em miniemulsão com potencial de aplicação como nanocarreadores de fármacos. Inicialmente foram avaliadas diferentes temperaturas de polimerização na faixa de 50 °C a 80 °C, assim como diferentes tipos de surfactantes e de poliois. Nesta etapa do trabalho foi verificado que a utilização dos monômeros óleo de mamona/PEG1000 e diisocianato de isoforona (IPDI) em uma razão molar de NCO/OH 1,5 (mol/mol), 20 % (m/m) de Tween 80, 50 % (m/m) do hidrófobo óleo de açaí, 70 °C por 4 horas de reação, tendo como condições de tempo e intensidade de sonificação 3 minutos a 70 %, foi possível obter nanopartículas de poli(ureia-uretano) com diâmetro médio de 225 nm e massa molar média ponderal de 17000 g/mol. Numa segunda etapa do trabalho foi avaliado o efeito da utilização da radiação microondas como uma forma alternativa de aquecimento na cinética da reação de polimerização em miniemulsão envolvendo os monômeros IPDI e os poliois óleo de mamona/Poli(etilenoglicol)1000 (PEG1000), óleo de mamona/PEG400, PEG400, glicerol e 1,6-hexanodiol. No estudo comparativo entre as técnicas de aquecimento convencional e aquecimento em microondas foram avaliadas a influência da variação da potência (50-300 W) na obtenção de poli(ureia-uretano), temperatura de reação (50-80 °C) e tipo de poliol. Os resultados indicaram que reações conduzidas com aquecimento microondas apresentam taxas de reações maiores quando comparado com as mesmas reações usando aquecimento convencional, também, foi possível obter PU com diferentes razões uretano/ureia o que possibilitou a obtenção de polímeros finais com diferentes características. Na terceira etapa deste trabalho foram realizados estudos de síntese de poli(ureia-uretano) utilizando como monômeros IPDI, policaprolactona (PCL530) e PEG com diferentes massas molares, além de diferentes concentrações e tipos de surfactante (não iônico, aniônico e catiônico). A concentração de PEG400 (0-40 %) e o tempo de peguilação (0-24 h) foram variados a fim de verificar a influência no grau de peguilação na carga superficial das nanopartículas de poli(ureia-uretano). Estudos *in vitro* de citotoxicidade celular em células cancerígenas pulmonares A549 apontaram para uma boa compatibilidade celular sendo que a uma concentração de até 5mg/mL de nanopartículas 100 % de viabilidade celular foi observada para nanopartículas de poli(uréia-uretano) sintetizadas utilizando IPDI/PCL530/PEG400, 20 % crodamol, 5 % PEG400 e 5 % SDS ou 10 % Tween 80 como surfactantes.

**Palavras-chave:** Poli(reia-uretano), Polimerização em Miniemulsão, Nanopartículas, Microondas, *In vitro*.



## ABSTRACT

Polyurethane nanoparticles are promising candidates for the controlled and targeted delivery of therapeutics in a variety of biomedical applications, and studies show that polymeric nanoparticles have great potential for drug incorporation, and drug release. In this work synthesis of poly(urea-urethane) nanoparticles by miniemulsion polymerization was studied. In a first step, reactional conditions as sonication time (2 to 5 minutes) and intensity (60 % to 80 %) were evaluated to reducing the nanoparticles size as well different polymerization temperatures in the range 50 °C to 80 °C, surfactants types and polyols. In this step it was verified that using castor oil/PEG1000 as monomer and isophorone diisocyanate (IPDI) in a molar ratio NCO/OH 1.5 (mol/mol), 20% (w/w) Tween 80, 50 % (w/w) of hydrophobic açai oil, 70 °C, 4 h reaction time, with conditions of time and sonification intensity 3 min at 70% respectively, possible to prepare poly(urea-urethane) nanoparticles with a average diameter of and a weight a molar mass equal to 17000 g/mol . Microwave irradiation as a new alternative for the heating method was investigated in this work. First the kinetics of miniemulsion polymerization involving IPDI as monomers and castor oil/poly(etilenoglicol) 1000 (PEG1000), castor oil/PEG400, PEG400, glycerol and 1,6-hexanediol as polyols was evaluated. For a comparative study between the conventional heating and microwave heating the influence of power (50-300 W), reaction temperature (50-80 °C) at constant power at 150 W and the type of polyol to obtain poly(urea-urethane) was investigated. The results indicated that reactions carried out under microwave irradiation resulted in higher reaction rates when compared to the same reactions using conventional heating as well was possible to obtain different urethane/urea ratio to obtain PU polymers with different characteristics. In a third stage of this work, we studied the synthesis of poly(urea-urethane) based on IPDI monomers and polycaprolactone (PCL530) and PEG with different molecular weights, and different types and concentrations of surfactants (nonionic, anionic and cationic). PEG400 concentration (0-40 %) and pegylation time (0-24 h) were varied to determine the influence of PEGylation degree and surface charge of the poly(urea-urethane) nanoparticles. *In vitro* cytotoxicity in A549 cells (lung cancer cells) indicated a good compatibility with the cell up to a nanoparticles concentration of 5mg/mL in this case 100 % cell viability was observed using poly (urea-urethane) nanoparticles synthesized using IPDI/PCL530/PEG400, 20 % crodamol, 5% SDS, and 5 % PEG400, and 10 % Tween 80 as surfactant.

**Keywords:** Poly(urea-urethane), Miniemulsion polymerization, Nanoparticles, Microwave, *In vitro*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido na parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso na matriz polimérica da nanoesfera (SCHAFFAZICK e GUTERRES et al., 2003).....	32
Figura 2 – Representação esquemática da formação de monouretano e diuretano a partir da reação de poliadição de um diisocianato e um álcool (LIGABUE, 1999). .....	35
Figura 3 - Estrutura do grupamento uretano. ....	35
Figura 4 - Reação de formação de poliuretano através da reação entre um polioli e um diisocianato. ....	36
Figura 5 – Reação entre um isocianato e um diol formando uretano (a) e reação de entre isocianato e diamina formando ureia (b). ....	36
Figura 6 - Reação do grupamento isocianato com água.....	37
Figura 7 - FTIR das NPs de PU com óleo de açaí, sintetizadas via polimerização em miniemulsão. (a) 70 °C e (b) 80 °C.....	57
Figura 8 - Imagens de (a) MEV-FEG e (b) TEM das NPs de PU com óleo de açaí obtidas através de polimerização em miniemulsão com razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG1000 (vs monômeros), 20 % de Tween 80 e 50 % de óleo de açaí (vs fase orgânica). ....	58
Figura 9 - Distribuições de tamanho de partículas (determinadas por DLS) das NPs de PU com óleo de açaí, sintetizadas por polimerização em miniemulsão com diferentes tipos de polioli.....	60
Figura 10 - FTIR das NPs de PU com óleo de açaí, sintetizadas via polimerização em miniemulsão. (a) 20 % de Tween 80 e (b) 5 % Tween 80. ....	63
Figura 11 - Diagrama esquemático proposto para o mecanismo de formação de poli(ureia-uretano) via polimerização em miniemulsão usando radiação microondas e aquecimento convencional. Onde R representa a cadeia saturada ou insaturada do polioli presente na reação e R' representa o de 1,3,3 trimetil ciclohexano (produto da reação entre a amina, formada a partir da reação de um grupo isociano com a água, com outro grupo isociano).....	72
Figura 12 - Evolução da conversão (a e c) e diâmetro das nanopartículas (b e d) da PU durante polimerização em miniemulsão com aquecimento convencional (a e b) e radiação microondas (c e d) sintetizadas utilizando óleo de mamona/PEG400 como polioli. ....	73
Figura 13 - Evolução do tamanho das nanopartículas de PU durante polimerização em miniemulsão a temperatura constante em (a) reator microondas e (b) aquecimento convencional com diferentes poliois: 1,6-hexanodiol (■), óleo de mamona/PEG1000 (●), óleo de mamona/PEG400 (▲), e glicerol (▼). ....	77
Figura 14 - Médias de ângulo de contato para filmes de PU obtidos com diferentes poliois utilizando radiação microondas: (a) Óleo de mamona/PEG1000, (b) óleo de mamona/PEG400, (c) 1,6-hexanodiol e (d) glicerol. ....	78
Figura 15 - Caracterização por FTIR do PU sintetizado com diferentes poliois via polimerização em miniemulsão utilizando (a) aquecimento convencional e (b)	

reator microondas e razão uretano/ureia calculadas a partir das áreas de pico determinado por FTIR para reações com (c) aquecimento convencional e (d) reator microondas.....	79
Figura 16 - Evolução da temperatura (■) e potência (●) durante reações de obtenção de PU via polimerização em miniemulsão em microondas: (a) 70 °C e 50 W, (b) 70 °C e 100 W, 70 °C e 150 W e 70 °C e 300 W. ....	81
Figura 17 - Evolução da conversão durante a polimerização em miniemulsão em reator microondas e evolução do tamanho das partículas ( <i>inserção inferior à direita</i> ) a temperatura constante 70 °C e 50 W (■), 100 W (●), 150 W (▲), and 300 W (▼) como potência máxima. ....	83
Figura 18 - Razão Uretano/ureia ( <i>inserção inferior à esquerda</i> ) calculado usando áreas de pico do FTIR para as amostras de PU sintetizadas via polimerização em miniemulsão em reator microondas à temperatura constante variando a intensidade da potência aplicada.....	84
Figura 19 - Diagrama esquemático da reação para obtenção de PEG-PU-PCL530. ....	94
Figura 20 - Espectro de FTIR das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizada via polimerização em miniemulsão. <i>Figura superior à direita</i> : Espectro de <sup>1</sup> H NMR da mesma amostra.....	95
Figura 21 - Microscopia eletrônica de varredura ( <i>figura superior esquerdo</i> ), Microscopia de Força Atômica ( <i>figura inferior à esquerda</i> ) e distribuição de tamanho de nanopartículas poliuretano peguado (PEG400-PU-PCL530).96	
Figura 22 - Efeito do tipo e concentração de surfactante no tamanho das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 obtidas sob condições reacionais de: Razão molar IPDI:PCL530 2,5, 10 % PEG400, 20 % crodamol, 70 °C, 3 horas de reação. ....	97
Figura 23 - Influência da concentração de PEG400 na carga superficial ( $\zeta$ ) e massa molar ( <i>figura superior à esquerda</i> ) das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530. ....	100
Figura 24 - Efeito do tempo de peguilação no potencial-zeta (●) e massa molar (▲) das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530. Condições experimentais: razão molar IPDI: PCL530 2,5, 10 % de SDS, 20 % crodamol, 5 % de PEG 400, temperatura de reação 70 °C.....	101
Figura 25 - Avaliação <i>in vitro</i> da citotoxicidade das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas utilizando SDS, Tween 80, Brij 35 e CTAB como surfactante em células A549. Viabilidade celular em relação ao controle (sem NPs = 100 % de viabilidade celular) avaliada por ensaio de MTS. <i>Figura superior</i> : Morfologia celular (A549) com diferentes concentrações de nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas utilizando CTAB como surfactante. ....	103
Figura 26 - Estudo comparativo de IC <sub>50</sub> para nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas com diferentes surfactantes sob mesmas condições reacionais avaliadas por testes de MTS. ....	105
Figura 27 – Imagens da colocização de nanopartículas de PEG400-PU-PCL530-6coumarin em diferentes regiões das células A549 sintetizadas utilizando CTAB (a, b) e Tween 80 (c, d) como surfactantes. ....	106

Figura 28 - Citotoxicidade de diferentes nanopartículas em células A549 avaliadas por ensaio de MTS. Controles: nanopartículas PLGA (TAHARA et al., 2010) e glicerol-PU..... 108

Figura 29 - Redução da massa molar das nanopartículas de PU e avaliação do tamanho de partículas (*figura superior à direita*), usando como poliol óleo de mamona/PEG1000 (■), óleo de mamona/PEG400 (●) e PCL530/PEG400 (▲) durante ensaios de degradação a 37 °C..... 109

Figura 30 - Variação de pH durante o ensaio de degradação a 37 °C. .... 110





## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diisocianatos comumente usados na a síntese de PU .....	39
Tabela 2 - Efeito da temperatura de reação nas propriedades das NPs de PU sintetizadas com óleo de açaí por polimerização em miniemulsão. Condições reacionais: razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG (vs monômeros), 20 % de Tween 80 e 50% de óleo de açaí (vs fase orgânica), 4 horas de reação.....	56
Tabela 3 - Efeito do tipo de poliol nas propriedades das NPs de PU com óleo de açaí preparadas via polimerização em miniemulsão. Condições reacionais: razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG (vs monômeros), 20 % de Tween 80 e 50 % de óleo de açaí (vs fase orgânica), 70 °C, 4 horas de reação. ....	59
Tabela 4 - Efeito do tipo de surfactante nas propriedades das NPs de PU com óleo de açaí, sintetizadas via polimerização em miniemulsão. Condições reacionais: razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG1000 (vs monômeros), 50% de óleo de açaí (vs fase orgânica), 20 % surfactante, 70 °C e 4 horas de reação. 61	
Tabela 5 - Efeito da concentração de surfactante Tween 80 nas propriedades das NPs de PU com óleo de açaí, sintetizadas via polimerização em miniemulsão. Condições reacionais: razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG1000 (vs monômeros), 50 % de óleo de açaí (vs fase orgânica), 70 °C, 4 horas de reação. ....	62
Tabela 6 - Condições experimentais usadas na obtenção de PU via polimerização em miniemulsão utilizando radiação microondas e aquecimento convencional. 70	
Tabela 7 - Taxa de reação para reações em miniemulsão utilizando aquecimento convencional e radiação microondas a diferentes temperaturas.....	74
Tabela 8 - Efeito da radiação microondas em comparação ao aquecimento convencional na síntese de PU usando diferentes polióis. ....	76
Tabela 9 – Avaliação do teor de polímero insolúvel determinado por extração em soxhlet para PU obtidos com diferentes polióis com aquecimento convencional e radiação microondas. ....	80
Tabela 10 - Condições experimentais e resultado da polimerização em microondas utilizando diferentes potências a temperatura constante (70°) na obtenção de PU. 82	
Tabela 11 - Influência da taxa de cisalhamento no tamanho das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530. Condições reacionais: Razão molar IPDI:PCL530 2,5, 10 % PEG400, 20 % crodamol, 10 % surfactante, 70 °C, 3 horas de reação. ....	98
Tabela 12 - Efeito do tipo e concentração de surfactante no potencial-zeta das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530. Condições reacionais: Razão molar IPDI:PCL530 2,5, 10 % PEG400, 20 % crodamol, 70 °C, 3 horas de reação.99	



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PU	Poli(uréia-uretano)
NPs	Nanopartículas poliméricas
NCO	Isocianato
OH	Hidroxila
IPDI	Diisocianato de isoforona
PEG	Poli(etilenoglicol)-diol
PCL	Poli( $\epsilon$ -caprolactona) diol
CMC	Concentração micelar crítica
Tween 80	Monooleato de Sorbitan Etoxilado 20 unidades de óxido de etileno
SDS	Dodecil sulfato de sódio
Brij 35	Polioxietileno lauril éter
CTAB	Cetiltrimetil brometo de amônio
THF	Tetra-hidrofurano
DLS	Dispersão dinâmica de luz
GPC	Cromatografia de permeação em gel
HPLC	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
FEG-SEM	Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo
SEM	Microscópio eletrônico de varredura
AFM	Microscópio de Força Atômica
<sup>1</sup> HNMR	Ressonância nuclear magnética de hidrogênio
Mw	Massa molar ponderal média
Mn	Massa molar numérica média
Dp	Diâmetro médio das partículas
PDI	Índice de polidispersidade
A549	Células de adenocarcinoma, pulmão humano, um modelo <i>in vitro</i> do tipo epitélio alveolar II
MTS	[(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfo-fenil)-2H-tetrazólio, sal interno]
$\zeta$	Zeta – Potencial zeta
mV	Milivolts
nm	Nanômetros



## **SUMÁRIO**

### **CAPÍTULO I 27**

#### **INTRODUÇÃO 27**

##### **1.1 OBJETIVOS 28**

###### **1.1.1 Objetivos Específicos 28**

### **CAPITULO II 31**

#### **2.0 REVISAO BIBLIOGRÁFICA 31**

#### **2.1 Polímeros biodegradáveis e biocompatíveis 31**

#### **2.2 Obtenção de nanopartículas poliméricas 32**

#### **2.3 Polimerização em miniemulsão 33**

#### **2.4 Reação em etapas 34**

#### **2.5 Poliuretanos 35**

#### **2.6 Síntese de poli(ureia-uretano) 37**

##### **2.6.1 Método em uma etapa 37**

##### **2.6.2 Método em duas etapas (método do pré-polímero) 38**

##### **2.6.3 Polimerização interfacial 38**

#### **2.7 Isocianatos 38**

##### **2.7.1 Reatividade dos isocianatos 39**

#### **2.8 Polióis 40**

#### **2.9 Poli(ureia-uretano) em aplicações biomédicas 42**

##### **2.9.1 Dispositivos de poli(ureia-uretano) 42**

##### **2.9.2 Nanopartículas de poli(ureia-uretano) 43**

#### **2.10 Considerações Finais 44**

### **REFERÊNCIAS 45**

### **CAPITULO III 53**

#### **SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE POLI(UREIA-URETANO) CONTENDO ÓLEO DE AÇAÍ VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO 53**

##### **3.1 INTRODUÇÃO 53**

##### **3.2 MATERIAL E MÉTODOS 54**

###### **3.2.1 Reagentes 54**

###### **3.2.2 Polimerização em miniemulsão 54**

3.2.3	Caracterização	55
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.3.1	Efeito da temperatura de reação	55
3.1.1	Influência do tipo de poliol	58
3.3.2	Efeito do tipo do surfactante	60
3.3.3	Efeito da concentração de surfactante	61
3.4	CONCLUSÕES	63
3.5	BIBLIOGRAFIA	63

## CAPITULO IV 67

### EFEITO DA RADIAÇÃO MICROONDAS NA OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE POLI(UREIA-URETANO) VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO 67

4.1	INTRODUÇÃO	67
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	68
4.2.1	Materiais	68
4.2.2	Procedimentos experimentais	69
4.2.2.1	Polimerização por aquecimento convencional	69
4.2.2.2	Polimerização em reator microondas	69
4.2.3	Caracterização do polímero	70
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
4.3.1	Comparação entre polimerização em microondas e aquecimento convencional: Influência da temperatura na polimerização em miniemulsão	72
4.3.2	Comparação entre polimerização em microondas e aquecimento convencional: Influência do tipo de poliol na obtenção de PU via polimerização em miniemulsão	75
4.3.3	Efeito da potência máxima na polimerização em microondas	81
4.4	CONCLUSÕES	84
4.5	BIBLIOGRAFIA	85

## CAPITULO V 89

### SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PEG-POLI(UREIA-URETANO)-PCL VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO 89

5.1	INTRODUCAO	89
5.2	MATERIAL E METODOS	90
5.2.1	Materiais	90
5.2.2	Preparação das nanopartículas de PEG-PU-PCL530	91
5.2.2	Estudos de degradação	91
5.2.3	Caracterização das nanopartículas de PEG-PU-PCL530	92
5.2.4	Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i>	93
5.2.5	Determinação da colocação das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 em células A549	93
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
5.3.1	Caracterização e morfologia das nanopartículas de PEG-PU-PCL530	94
5.3.2	Influência do tipo e concentração do surfactante na carga superficial e tamanho das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530	96
5.3.4	Influência da massa molar do PEG e da concentração de PEG400 no tamanho das nanopartículas de PEG-PU-PCL530	99
5.3.5	Efeito do tempo de reação na peguilação	101
5.3.6	Citotoxicidade <i>in vitro</i> das nanopartículas de PEG400-PU-PCL em células A549	102
3.5.1	Avaliação do perfil de degradação em função do tempo	109
5.4	CONCLUSÕES	111
5.5	BIBLIOGRAFIA	111
CAPITULO VI		117
CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES		117



# CAPÍTULO I

## INTRODUÇÃO

Estudos mostram que nanopartículas poliméricas possuem grande potencial para incorporação de fármacos (GAUDIN e SINTES-ZYDOWICZ, 2008; DING et al., 2011; SOUTO et al., 2012; VALERIO et al., 2013). Dessa forma, numerosos processos para obtenção de produtos nanométricos foram desenvolvidos, sendo que o processo de polimerização em miniemulsão é um dos que mais se destacam por apresentar vantagens como não requerer o uso excessivo de surfactante, estabilidade coloidal suficiente e possibilidade de obtenção do produto final em uma etapa de reação. Os avanços na tecnologia de nanopartículas vêm aumentando as possibilidades terapêuticas usadas principalmente clinicamente. Na última década o uso de polímeros biodegradáveis e biocompatíveis em aplicações nas áreas farmacêuticas e em dispositivos biomédicos aumentaram drasticamente. As aplicações biomédicas mais importantes de polímeros biodegradáveis estão nas áreas clínicas e farmacêuticas (SANTOS e FIALHO, 2008; SOUTO et al., 2012; VALERIO et al., 2013).

Polímeros biodegradáveis podem ser naturais ou sintéticos, sendo que os polímeros sintéticos apresentam as vantagens de geralmente serem biologicamente inertes, apresentarem propriedades mais uniformes e principalmente, de poderem ser sintetizados para fornecer uma faixa mais ampla de propriedades e características, isto só é possível devido à grande versatilidade apresentada pelas reações de polimerização (BATHFIELD et al., 2005; LU e CHEN, 2004; WANG et al., 2010; DING et al., 2011).

Nas últimas décadas, nanopartículas biodegradáveis de poli(ureia-uretano) (PU) vem sendo estudadas como um sistema efetivo para liberação controlada de fármacos. A aplicação de materiais poliméricos com finalidades terapêuticas está crescendo rapidamente e tem sido evidenciada em diversos campos como na engenharia de tecidos, implante de dispositivos médicos e órgãos artificiais, próteses, oftalmologia, odontologia, reparo ósseo entre outros. As vantagens da utilização desses materiais biocompatíveis e biodegradáveis incluem além do controle da liberação a redução de efeitos adversos associados à substância, proteção de compostos da inativação antes de atingirem o local de ação, aumento da penetração intracelular e aumento da atividade farmacológica (TORINI et al., 2005; ZANETTI-RAMOS et al., 2006; SANTOS e FIALHO, 2008; DING et al., 2011).

Entre os monômeros hidroxilados, podem ser utilizados álcoois de baixa massa molar, polímeros sintéticos, como poliéteres, poliésteres, policaprolactamas, polímeros naturais como celulose e triacilgliceróis como o óleo de mamona, dentre outros, de acordo com as características

esperadas para o produto final (COUTINHO et al., 2000). Os diisocianatos podem apresentar diferentes estruturas, tais como aromáticas, alifáticas, ciclo alifáticas ou policíclicas. Os sistemas mais relatados na literatura são à base de poliéter ou poliéster dihidroxilados e diisocianatos alifáticos (COUTINHO et al., 2000; TORINI et al., 2005). Nesta linha de polímeros biocompatíveis será estudada a síntese de nanopartículas de poli(ureia-uretano) obtidas através da polimerização em etapas em miniemulsão entre o diisocianato de isoforona (IPDI) e diferentes fontes de hidroxila como óleo de mamona, 1,6-hexanodiol, glicerol, PEG e PCL com o objetivo de obter PU com diferentes degradabilidades, assim como a utilização de PEG com o objetivo de obter nanopartículas de PU peguiladas para aplicação farmacêutica via polimerização em miniemulsão, assim como o estudo da viabilidade celular em termos de citotoxicidade das células A549 (linhagem de células de adenocarcinoma, pulmão humano, um modelo *in vitro* do tipo epitélio alveolar II).

A polimerização em miniemulsão oferece vantagens quando usada como uma técnica de nanoencapsulação em comparação a polimerização convencional em emulsão, por exemplo, quando a polimerização envolve um composto muito insolúvel, este apresenta dificuldade para passar pela fase aquosa em emulsão convencional para entrar nas partículas, mas pode ser adicionado diretamente nas gotas da miniemulsão que são o locus de polimerização (ROMIO, 2009). Além disso, a polimerização em miniemulsão permite a síntese de nanopartículas através de reações de polimerização em etapas, como apresentado neste trabalho.

## **1.1 OBJETIVOS**

Este trabalho tem como principal objetivo estudar a obtenção e caracterização de nanopartículas poliméricas de poli(ureia-uretano) pelo mecanismo de polimerização em etapas via polimerização em miniemulsão. O desafio principal deste trabalho está em encontrar formulações para o preparo da miniemulsão com relação a sua estabilidade, diâmetro de partícula e distribuição do tamanho das partículas para aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos. Para tanto, são objetivos específicos da Tese de Doutorado:

### **1.1.1 Objetivos Específicos**

- 1 – Avaliar o efeito de diferentes temperaturas de reação no processo de síntese de poli(ureia-uretano) via polimerização em miniemulsão;

- 2 - Analisar os efeitos de diferentes surfactantes sobre a estabilidade do sistema;
- 4 – Avaliar os efeitos das condições tempo e intensidade de sonificação no preparo da miniemulsão em relação à distribuição e diâmetro médio das partículas;
- 5 - Verificar a influência do tipo de polioliol na síntese de poli(ureia-uretano);
- 6 – Selecionar as formulações e condições de síntese mais promissoras para estudos de degradação;
- 7 – Estudar a degradação da poli(ureia-uretano) em função do tempo em diferentes condições de temperatura e pH;
- 8 – Avaliar o efeito do aquecimento por irradiação microondas nas reações de polimerização em etapas em miniemulsão para obtenção do polímero poli(ureia-uretano);
- 9 - Selecionar o sistema de maior interesse, em relação à estabilidade, diâmetro de partícula e massa molar para prosseguir com avaliações toxicológicas durante estudos *in vitro*.

Este trabalho foi dividido em seis capítulos sendo, uma breve introdução com os objetivos desta tese de doutoramento apresentada no Capítulo 1. O Capítulo 2 traz a fundamentação teórica necessária ao desenvolvimento deste trabalho, apresentando a descrição de processos para a obtenção de nanopartículas de poli(ureia-uretano) como o processo de polimerização em miniemulsão, teoria e a aplicação das micro-ondas, técnicas estas utilizadas neste trabalho. O Capítulo 3 apresenta estudos de síntese de nanopartículas de poli(ureia-uretano) avaliando o efeito do tempo e intensidade de sonificação assim como temperatura de reação e concentração e tipo de surfactante na obtenção de nanopartículas de poli(ureia-uretano) enquanto o Capítulo 4 apresenta o estudo comparativo entre o efeito da radiação microondas e do aquecimento convencional na obtenção de nanopartículas de poli(ureia-uretano). O Capítulo 5 apresenta o estudo da síntese de poli(ureia-uretano) com ênfase para aplicação em tecidos vivos através de ensaios *in vitro*. No Capítulo 6 são relatadas as conclusões gerais e as sugestões para trabalhos futuros.



## CAPITULO II

### 2.0 REVISAO BIBLIOGRÁFICA

O presente capítulo tem como objetivo contextualizar os principais interesses e a relevância no qual o trabalho se insere. A seguir será apresentada uma breve explanação sobre os avanços e as vantagens da pesquisa com polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, obtenção de nanopartículas poliméricas e poli(ureia-uretano). Posteriormente serão ressaltados os principais aspectos da polimerização para obtenção de poli(ureia-uretano), assim como as características dos monômeros, as vantagens de sua utilização e o relato de alguns trabalhos relacionados à obtenção de poli(ureia-uretano). Neste capítulo também serão apresentadas brevemente algumas definições com relação à cinética de reação para a formação de poli(ureia-uretano).

#### 2.1 Polímeros biodegradáveis e biocompatíveis

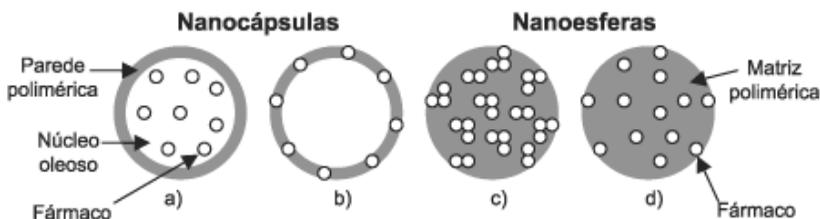
A utilização de polímeros biodegradáveis, que vem despertando um crescente interesse em pesquisadores em diversas áreas, devido à diversidade de suas aplicações nos campos da medicina, biotecnologia e na área ambiental. Para que um polímero seja caracterizado como biocompatível deve ter sua ação avaliada em diferentes campos, sendo que o mesmo não deve ser causador de resposta inflamatória ou reações tóxicas no local de aplicação, deve apresentar meia-vida adequada, tempo de degradação compatível com o processo de cicatrização ou regeneração, apresentar propriedades mecânicas adequadas à aplicação desejada, os produtos de degradação não devem ser tóxicos, ser passível de metabolização e eliminação do organismo e apresentar permeabilidade apropriada à aplicação desejada (SANTOS e FIALHO, 2008).

Durante a última década o uso de polímeros biodegradáveis nas áreas farmacêuticas e biomédicas aumentou drasticamente principalmente em aplicações como liberação controlada de fármacos, reconstrução de ligamentos, válvulas cardíacas artificiais, reparos dentários, lentes de contato, enxertos vasculares e regeneração de órgãos (MAAFI et al., 2010; SILVA et al., 2010). A natureza dos polímeros empregados em sistemas de liberação de fármacos influencia significativamente no perfil de liberação do sistema. Os polímeros biodegradáveis sintéticos têm despertado crescente interesse na aplicação como sistemas de liberação, já que os naturais apresentam, geralmente, uma rápida liberação do fármaco (RIEUX et al., 2006). Os principais critérios na seleção de um polímero são sua

biodisponibilidade, biocompatibilidade e sua velocidade de degradação. O perfil e o mecanismo de liberação do fármaco dependem da natureza do polímero e também das propriedades físico-químicas da substância nele incorporado (RIEUX et al., 2006).

## 2.2 Obtenção de nanopartículas poliméricas

O termo nanopartículas inclui nanocápsulas e nanoesferas, as quais diferem entre si segundo a composição e organização estrutural (SCHAFFAZICK e GUTERRES et al., 2003) conforme apresentado na Figura 1.



**Figura 1** - Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido na parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso na matriz polimérica da nanoesfera (SCHAFFAZICK e GUTERRES et al., 2003).

As nanopartículas são sistemas coloidais poliméricos com tamanho entre 10 e 1000 nm, nos quais o fármaco pode estar dissolvido, recoberto, encapsulado ou disperso. Nanocápsulas são sistemas em que o fármaco encontra-se no interior de uma cavidade aquosa ou oleosa circundada por uma membrana polimérica, podendo também estar adsorvido na membrana polimérica. As nanoesferas são formadas por uma matriz polimérica, onde o fármaco encontra-se disperso ou adsorvido. Estes sistemas podem promover um aumento da solubilidade do fármaco neles incorporado, proteger as substâncias de degradação e modificar sua distribuição (SANTOS e FIALHO, 2008).

Atualmente, são conhecidas pelo menos três diferentes técnicas de polimerização em emulsão: emulsão convencional, miniemulsão e microemulsão. A polimerização em miniemulsão apresenta algumas vantagens em relação à polimerização em emulsão convencional devido à possibilidade de incorporação de compostos inorgânicos nas nanopartículas

de polímero formadas durante a reação e a um melhor controle da etapa de nucleação, isto é possível, pois o mecanismo predominante neste tipo de polimerização é a nucleação das gotas de monômero (ARAÚJO, 1999; STEINMACHER, 2010).

### **2.3 Polimerização em miniemulsão**

O processo de polimerização em miniemulsão ocorre inicialmente com a formação de pequenas gotas estáveis de 50 a 500 nm formadas pela dispersão do sistema composto por uma fase dispersa (gotas líquidas, óleo), a fase contínua (fase aquosa), um surfactante e um co-estabilizador (normalmente hidrofóbico). A dispersão de gotas submicrométricas é alcançada com a utilização de um mecanismo com alto cisalhamento. O tamanho das gotas depois da miniemulsificação depende principalmente da quantidade e tipo de surfactante e tempo de sonificação (LANDFESTER, 2006, ROMIO et al., 2009).

O objetivo da polimerização em miniemulsão é iniciar a polimerização nas gotas já estabilizadas, sem haver nucleações secundárias e minimizando o transporte de massa (ANTONIETTI e LANDFESTER, 2002). Essa é uma das vantagens dessa técnica, permitindo assim que fármacos, óleos ou outras substâncias possam ser incorporados às gotas, mantendo suas características desde a dispersão até a obtenção das nanopartículas. Dentre as aplicações desta técnica, pode-se citar a obtenção dos materiais híbridos orgânico/inorgânico, nanopartículas com morfologia controlada, encapsulação de pigmentos, encapsulação e liberação controlada de fármacos, entre outros. (ASUA, 2002). Em 2001 Tiarks e colaboradores mostraram que é possível sintetizar em uma única etapa nanopartículas de PU com diâmetros em torno de 200 nm via reações de polimerização em etapas via miniemulsão. Adicionalmente Torinie colaboradores (2005), estudaram através de diferentes tipos de surfactantes a obtenção de nanopartículas de poliuretano com diâmetros médios de 200 nm via polimerização em miniemulsão interfacial, ao final do trabalho os autores descrevem que utilizando IPDI e 1,6-hexanodiol como monômeros, ciclohexano como coestabilizador e lauril sulfato de sódio (SDS) como surfactante foi possível obter nanocápsulas de PU estáveis com diâmetro de cerca de 200 nm e distribuições de tamanho estreitas.

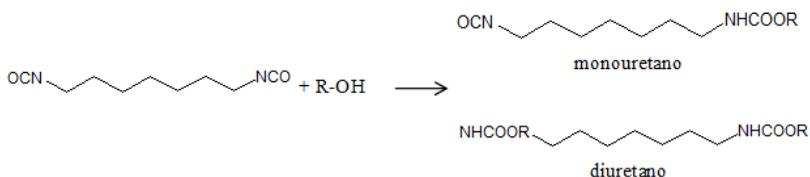
Ainda Gudin e SINTES-ZYDOWICZ (2012), em estudos envolvendo a cinética das reações de polimerização em miniemulsão interfacial, entre os monômeros IPDI e 1,6-hexanodiol a diferentes temperaturas, relataram que apesar de toda complexidade envolvida nas reações químicas nesse tipo de reação, os resultados indicam a existência de três diferentes zonas durante a polimerização interfacial, sendo estas

influenciadas diretamente pela natureza da fase dispersa e do tipo de monômero. Em estudos mais recentes ZHANG e colaboradores (2013), apresentaram estudos sobre a penetração de nanopartículas de PU através da pele, a fim de aumentar a entrega de um determinado fármaco em aplicações tópicas os autores associaram as nanopartículas de PU obtidas através de polimerização em miniemulsão entre os monômeros TDI e 1,4-fenilenedimetanol com a aplicação de plasma. Como nova estratégia de liberação de fármaco os autores descrevem que a utilização de plasma auxilia na penetração das nanopartículas de PU sem que houvesse dano à estrutura das mesmas.

## 2.4 Reação em etapas

Polimerização em etapas (*Step-growth polymerization*) é uma das mais antigas técnicas de obtenção de polímeros e hoje é amplamente utilizada na indústria (ROGERS et al., 2003; MATYJASZEWSKI et al., 2007). O conceito de polimerização por adição ou polimerização por condensação foi introduzido por Wallace Hume Carothers, em 1929, e refere-se ao tipo de produtos gerados na reação, sendo que quando gerado apenas um polímero (adição), um polímero e uma molécula de baixa massa molar (condensação) (SELKE et al., 2004). A distinção entre polimerização em etapas e polimerização em cadeias foi introduzido por Paul Flory em 1953, e refere-se aos mecanismos de reação com grupos funcionais (MARK et al., 1998; SELKE et al., 2004).

Segundo a IUPAC (1997) a reação em etapas é o processo de polimerização no qual o crescimento das cadeias ocorre pela adição ou pela condensação das cadeias com diferentes graus de polimerização. Nesse mecanismo de polimerização os monômeros bifuncionais ou multifuncionais reagem para formar inicialmente dímeros, trímeros, oligômeros e por fim cadeias longas de polímero (KRÓL, 2007). A reação de polimerização do uretano ocorre através da adição de cadeias e formação de monouretanos, diuretanos (Figura 2) e por fim cadeias poliméricas de PU (VERMETTE et al., 2001; ROGERS et al., 2003).



**Figura 2** – Representação esquemática da formação de monouretano e diuretano a partir da reação de poliadição de um diisocianato e um álcool (LIGABUE, 1999).

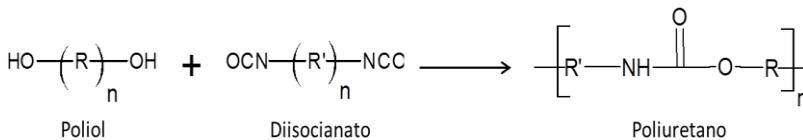
## 2.5 Poliuretanos

O termo poli(ureia-uretano) aplica-se à classe de compostos que contêm repetidas ligações uretano (Figura 3) em sua estrutura (SAUNDERS e FRISCH, 1987). Diferentes de outros polímeros, os poli(ureia-uretano) não contêm unidades uretanos repetidas de modo regular, uma PU pode conter além dos grupos uretanos, hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, grupos éster, éter, ureia e amida. Esta reação, descoberta em 1848 por Wultz, iniciou sua aplicação comercial na década de 40, quando a Bayer desenvolveu na Alemanha, os primeiros polímeros poli(ureia-uretano) (SAUNDERS e FRISCH, 1987; WEGENER et al., 2001; RANDALL e LEE, 2002).



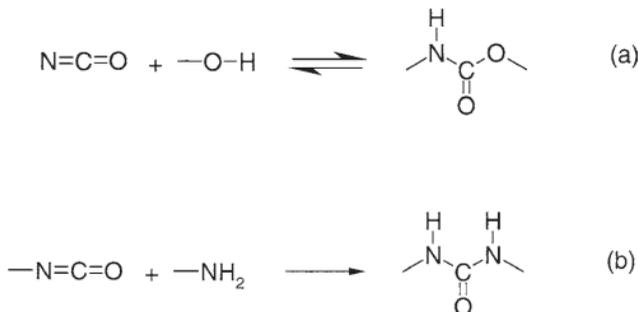
**Figura 3** - Estrutura do grupamento uretano.

Segmentos poli(ureia-uretano) podem ser representados em sua forma geral por dois componentes básicos, poliol fonte de hidroxila (OH), diisocianato (NCO) (WEGENER et al., 2001; RANDALL e LEE, 2002). Esses polímeros são obtidos através da polimerização entre grupamentos isocianatos (-NCO) e grupamentos hidroxilas (-OH), bi ou multifuncionais. Assim poli(ureia-uretano) são formados pela reação de poliadição entre diisocianatos e poliois como apresentado na Figura 4. Um centro nucleofílico contendo um átomo de hidrogênio ativo ataca o carbono eletrofílico e o átomo de hidrogênio ativo é adicionado ao nitrogênio. A ocorrência de impedimento estérico tanto no grupo isocianato quanto no composto com hidrogênio ativo provocam diminuição na reatividade (VILAR, 1999; LIMA, 2007).



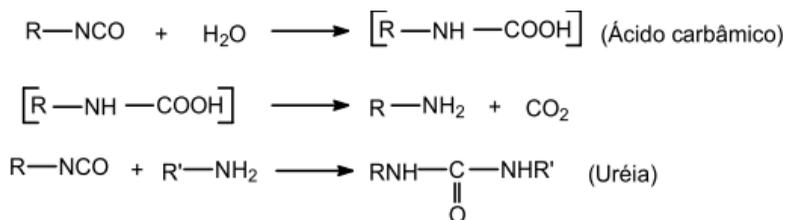
**Figura 4** - Reação de formação de poliuretano através da reação entre um polioliol e um diisocianato.

Na síntese dos PU a principal reação envolve a formação do segmento uretano na reação entre os grupamentos isocianatos e hidroxila. Quando um diol é usado na reação grupamentos uretanos são formados (Figura 5a), enquanto que grupamentos ureia podem ser formados na reação com diaminas (Figura 5b) (LIMA, 2007; OLIVEIRA, 2008). Ainda podem ocorrer reações com aminas formando poliureia, água e liberando gás carbônico, grupos uretano e ureia resultando na formação de ligações cruzadas alofanato e biureto, respectivamente.



**Figura 5** – Reação entre um isocianato e um diol formando uretano (a) e reação de entre isocianato e diamina formando ureia (b).

A reação entre diisocianatos e água é a reação secundária mais importante que deve ser evitada ou minimizada devido à alta formação de grupamentos ureia que reduzem a massa molar do PU, exceto se o desejado for um polímero com alto teor de poliureia (RANDALL e LEE, 2002; LIMA, 2007; CHERNG et al., 2013). Esta reação tem grande importância na fabricação das espumas de PU, onde o gás carbônico formado é usado na expansão destas espumas (TIARKS et al., 2001; KRÓL, 2007). Esta reação ocorre em três etapas, nas quais inicialmente o ácido carbâmico é formado se decompondo em gás carbônico e na amina correspondente, esta reage imediatamente com o diisocianato formando ureia como esquematizado na Figura 6 (RANDALL e LEE, 2002; VILLAR, 2008).



**Figura 6** - Reação do grupamento isocianato com água.

A estrutura do isocianato tem grande influência no aumento ou diminuição da sua reatividade, assim como, as propriedades mecânicas obtidas estão diretamente relacionadas à combinação dos constituintes das cadeias poliméricas, razão molar NCO/OH, tipo de extensor de cadeia e presença ou não de solventes na síntese (DELPECH e COUTINHO, 2000; LIGABUE et al., 2000; MAAFI et al., 2010). A presença de segmentos flexíveis na estrutura, referentes ao polioliol, conferem características elastoméricas ao polímero dando maior flexibilidade ao PU, enquanto os segmentos rígidos se devem ao isocianato e ao extensor da cadeia e conferem propriedades como dureza e resistência (VILAR, 1999; MAAFI et al., 2010). Assim, as propriedades finais de um poli(ureia-uretano) são dependentes da natureza, das características físicas e químicas destes constituintes assim como do método de obtenção destes.

## 2.6 Síntese de poli(ureia-uretano)

Nos últimos anos poli(ureia-uretano) tem sido cada vez mais utilizados em uma variedade de aplicações devido, principalmente, ao seu custo-benefício e qualidade ambiental (ZIA et al., 2007). Na literatura três técnicas são descritas para síntese de nanopartículas de PU, sendo estas: método em uma etapa, método em duas etapas e polimerização interfacial. A diferença entre os métodos em uma e duas etapas está na sequência da adição dos reagentes e em alguns casos no uso de solventes. Mais recentemente a técnica de polimerização interfacial vem sendo reportada na síntese de nanocápsulas de poli(ureia-uretano).

### 2.6.1 Método em uma etapa

Neste método os monômeros (diisocianato e polióis), extensor de cadeia e demais componentes da reação são adicionados ao reator simultaneamente para formação do produto final. Neste caso, o isocianato está livre para reagir com qualquer outro composto do sistema como a água ou o extensor de cadeia quando presentes no meio reacional. As moléculas

presentes na formulação possuem reatividades diferentes podendo estas reagir preferencialmente com o isocianato ou outro composto presente na reação. Como os extensores de cadeia consistem de álcoois primários ou aminas primárias, estes geralmente reagem com os isocianatos antes dos polióis. Isto resulta na formação de segmentos rígidos de comprimento variado, distribuídos ao acaso, não havendo controle do segmento rígido da cadeia (BOCK, 2001).

### **2.6.2 Método em duas etapas (método do pré-polímero)**

No método em duas etapas há uma pré-reação de um isocianato com um diol de massa molar entre 1000-4000g/mol, para formação de um produto intermediário chamado pré-polímero que apresenta baixa concentração de grupos NCO (aproximadamente 3% a 10% da massa). Em uma segunda etapa, o pré-polímero formado reage com um extensor de cadeia para produzir o polímero final. Normalmente, uma pequena quantidade de solvente orgânico até 15 % em massa é usada para diminuir a viscosidade do meio (DODGE, 2003; OLIVEIRA, 2008).

Neste método os grupos NCO restantes reagem criando segmentos rígidos uniformes contendo uma unidade de extensor e duas unidades de isocianato resultando em blocos rígidos de tamanho pequeno e uniforme, o que confere ao material obtido propriedades melhoradas, com relação à resistência ao corte e à ruptura (OLIVEIRA, 2008; VROMAN e TIGHZERT, 2009).

### **2.6.3 Polimerização interfacial**

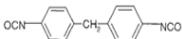
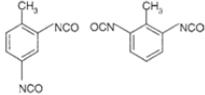
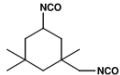
A polimerização interfacial ocorre na interface de duas fases imiscíveis e de componentes com baixa massa molar, cada uma contendo um dos monômeros. Os monômeros dissolvidos são difundidos na interface, onde ocorre a reação de polimerização. O polímero resultante é geralmente imiscível nas fases líquidas, sendo que uma película polimérica cresce na interface (CHEN et al., 2009). Este método se baseia em duas etapas. Na primeira etapa é formada uma emulsão óleo em água e o monômero diisocianato é colocado nas gotas da emulsão. Na segunda etapa ocorre a polimerização pela adição do segundo monômero solúvel na fase aquosa (amina ou polioliol) ao sistema (BOUCHEMAL et al., 2004a).

## **2.7 Isocianatos**

Isocianatos são compostos que possuem em sua estrutura um ou mais grupamentos NCO que reagem com átomos de hidrogênio ativo, presentes nos polióis, água e extensores de cadeia (HARE, 1994;

WEGENER et al., 2001; VILAR, 2008). Os isocianatos mais usados na síntese de poli(ureia-uretano) são os isocianatos bifuncionais sendo assim chamados de diisocianatos. Os diisocianatos podem ser aromáticos ou alifáticos como o 4,4'-difenilmetano diisocianato (MDI) e MDI hidrogenado (HMDI). Outro isocianato igualmente importante na indústria de poli(ureia-uretano) é o toluenometil diisocianato (TDI) com o grupamento isocianato nas posições 2,4 ou 2,6 e o diisocianato de isoforona (IPDI) (Tabela 1) (VERMETTE et al., 2001; WEGENER et al., 2001).

**Tabela 1** - Diisocianatos comumente usados na a síntese de PU

Diisocianato	Nomenclatura	Estrutura molecular
HDI	Diisocianato de hexametileno	
MDI	4,4'-difenilmetano diisocianato	
2,4-TDI e 2,6-TDI	2,4-Toluenometil diisocianato e 2,6-Toluenometil diisocianato	
IPDI	Diisocianato de isoforona	

Os diisocianatos, como exposto, tem a capacidade de formar estruturas e PU distintas, assim a escolha destes monômeros para uma dada aplicação deve ser baseada nas suas características, como estrutura e reatividade, pois tem influência direta nas características finais do PU.

### 2.7.1 Reatividade dos isocianatos

Um dos fatores importante na escolha do diisocianato esta baseado na sua reatividade, pois esta característica esta diretamente relacionada às propriedades do produto final, assim como sua aplicabilidade. A estrutura do isocianato tem importância na reatividade do grupamento NCO, que é aumentada por substituintes que elevem a carga positiva no carbono. Os isocianatos são compostos que possuem grupamentos altamente insaturados ( $R-N=C=O$ ), onde o carbono apresenta-se como um centro deficitário eletrônico, representado através dos híbridos de ressonância. Os grupos NCO possuem velocidades reacionais que variam com os diversos compostos contendo átomos de hidrogênio ativo (LIGABUE, 1995).

Grupos receptores de elétrons ligados ao grupamento NCO aumentam sua reatividade e os doadores a reduzem, por isso isocianatos

aromáticos são mais reativos do que os alifáticos (SUBRAMANI et al., 2004; OLIVEIRA, 2008). Geralmente, diisocianatos alifáticos, como o IPDI e o HMDI são comercialmente utilizados, devido a sua baixa reatividade com água quando comparados com os isocianatos aromáticos, como MDI e o TDI (LIMA, 2007). Os diisocianatos que contém os grupamentos NCO no mesmo anel aromático a reatividade depende do efeito ativador do outro grupo substituinte. O decréscimo da reatividade é maior se outro substituinte estiver presente em posição orto em relação ao segundo NCO. Se o primeiro NCO reagir com a hidroxila de um álcool, por exemplo, o grupo NCO não reagido passa a ter reatividade igual a de um monoisocianato com um substituinte uretano, e o grupo uretano tem efeito ativador bem menor do que o grupo NCO na mesma posição (VILLAR, 2008; OLIVEIRA, 2008).

O IPDI, alvo de estudo deste trabalho é uma molécula assimétrica, cicloalifática, comercializado na forma de mistura de isômeros (25/75 cis/trans), possuindo assim quatro grupos NCO diferentes. Dois são grupos NCO alifáticos e secundários, com reatividade de aproximadamente metade da do NCO do HDI. Os outros dois grupos NCO são primários, porém estericamente impedidos e com velocidade cinco vezes menor do que do MDI, o que torna o IPDI o menos reativo dos isocianatos comerciais (VILLAR, 2008). Sendo assim, sua menor reatividade reduz a possibilidade das reações laterais com as hidroxilas da água havendo uma menor formação de ureia, além de ser menos volátil devido sua menor pressão de vapor e apresentar menor toxicidade por ser um diisocianato alifático.

## 2.8 Polióis

Uma grande variedade de polióis é utilizada na manufatura de poli(ureia-uretano), desde compostos naturais como o óleo de mamona, que contém grupos hidroxilas, até polióis sintéticos com características específicas. Entre os monômeros hidroxilados, podem ser utilizados álcoois de baixa massa molar, poliéteres, poliésteres, policaprolactamas, polímeros naturais como celulose e lignina, triglicerídeos como o óleo de mamona, entre outros (COUTINHO et al., 2002; VILLAR, 2008). Os polióis mais simples são glicóis, como glicóis etilênicos, 1,4-butanodiol, e 1,6-hexanodiol que possuem baixa massa molar e dão origem a segmentos poliméricos rígidos devido à alta concentração de grupos uretânicos por unidade polimérica. Polióis de massas molares maiores normalmente são os poliéteres e poliésteres terminados por grupos hidroxila (SERVES, 2007).

Polietilenoglicol (PEG) é um polímero formado através etileno glicol, aprovado para consumo interno pelo FDA (*Food and Drug*

*Administration*) e possui grande importância para as áreas biomédicas e de biomateriais. Produzido mundialmente em grandes quantidades e com massas molares variando de poucas centenas a milhares de daltons. A utilização de PEG é de grande interesse na biotecnologia principalmente por biodegradável, além de auxiliar na liberação de fármacos pelo aumento da circulação sistêmica das nanopartículas. Tais propriedades conferem ampla utilização como agente emulsificante, umectante, lubrificante e plastificante nos setores alimentício, farmacêutico, médico, odontológico, cosmético, têxtil, entre outros (LI, 2003; OSHIMA et al., 2009).

Policaprolactona (PCL) é um dos monômeros mais frequentemente utilizadas como segmentos flexíveis na síntese de poliuretanos degradáveis, geralmente a sua utilização esta associado ao aumento da cristalinidade assim como das propriedades mecânicas dos elastômeros de poliuretanos (ZHANG et al., 2012; da SILVA et al., 2010). Durante o processo de degradação as ligações éster do PCL podem ser hidrolisadas e o seu produto de degradação obtido é a 6-hidroxi-hexanóico um metabólico não tóxico o que torna a sua aplicação em partículas aplicadas na liberação de fármaco interessante (da SILVA et al., 2010; MARCOS-FERNÁNDEZ et al., 2006).

Glicerol ou Propano-1,2,3-triol é um composto orgânico pertencente à função álcool. É líquido à temperatura ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado e apresenta três hidroxilas em sua estrutura molecular, está presente nos óleos e gorduras de origem animal e vegetal ligados a ácidos graxos tais como o ácido estereárico, oleico, palmítico e láurico para formar a molécula de triacilglicerol (IUPAC, 1997). Devido sua solubilidade em água a utilização de glicerol na obtenção de poli(ureia-uretano) faz com a polimerização ocorra na interface óleo/água, também devido ao seu arranjo molecular apresentar três hidroxilas, as reações utilizando glicerol possibilitam a obtenção de polímeros ramificados ou reticulados (CHUN et al., 2007; CHERNG et al., 2013).

Todo o glicerol produzido no mundo, até 1949, era proveniente da indústria de sabão. Atualmente, 70% da produção de glicerol nos Estados Unidos ainda provêm dos glicerídeos (óleos e gorduras naturais) e o restante, da produção do glicerol sintético (subproduto da fabricação de propileno), da produção de ácidos graxos e também de ésteres de ácidos graxos (biodiesel). No ano de 2000 a produção mundial de glicerol foi estimada em 800 mil toneladas, sendo que 10% deste total são oriundos de indústrias responsáveis pela produção de biodiesel (KIRK-OTHMER, 2007; VALLIYAPPAN et al., 2008).

Óleos vegetais estão sendo vistos como uma importante fonte alternativa de grupos hidroxil na síntese de poli(ureia-uretano) por

apresentarem um competitivo custo quando comparado a outros políeis, além de ser oriundo de uma fonte renovável (MUTLU e MEIER, 2010). A obtenção de poli(ureia-uretano) a base de fontes renováveis como óleos vegetais tem sido visto pelos pesquisadores como uma interessante alternativa para a substituição de plásticos com origem petroquímica (ROSLINDO et al., 1997; VILLAR, 2008). O óleo de mamona, por apresentar grupos hidroxila em sua composição é um atrativo poliálcool na obtenção de PU. Cerca de 90% dos ácidos graxos presentes no óleo de mamona se constituem no ácido ricinoléico, sendo os 10% restantes referentes a ácidos graxos não hidroxilados, principalmente os ácidos linoleicos e oleicos, o que confere ao óleo de mamona uma funcionalidade média igual a 2,7. O valor do índice de hidroxilas é de 163 mg de KOH/g e trata-se de um produto obtido com alto grau de pureza (KOUTROUBAS et al., 1999; VILLAR, 2008).

A grande variedade de reagentes e possibilidades de seleção destes materiais proporciona a obtenção de poli(ureia-uretano) com características físicas e químicas distintas, possibilitando também a produção de polímeros lineares ou reticulados, contendo não só ligações uretânicas, que são a base de sua classificação, mas também outros tipos de ligações (COUTINHO et al., 2002). Com o objetivo de desenvolver um sistema de liberação de fármacos com baixa toxicidade, o óleo de mamona usado como monômero na síntese de nanopartículas de PU em meio aquoso torna-se uma importante alternativa, principalmente nos últimos anos quando polímeros biodegradáveis de fontes renováveis têm aplicabilidade em diferentes áreas. Assim, o estudo dessas variáveis é alvo de muitos trabalhos, não apenas por influenciarem nas características do polímero obtido ao final da reação, mas para avaliar os efeitos cinéticos da reação que serão influenciados pelo tipo de ligação, reatividade e concentração dos reagentes utilizados.

## **2.9 Poli(ureia-uretano) em aplicações biomédicas**

### **2.9.1 Dispositivos de poli(ureia-uretano)**

Nos últimos anos, vários materiais artificiais desenvolvidos para aplicações biomédicas, vêm sendo testados, com o intuito de avaliar as suas propriedades na utilização em áreas multidisciplinares como medicina, biologia, química e engenharias. As propriedades mais importantes desses materiais são a biocompatibilidade, baixa toxicidade, alta estabilidade, densidade e massa molar adequado, resistência mecânica e elasticidade adequada, além de baixo custo (ROSLINDO et al., 1997; ZANETTI-RAMOS et al., 2005; MAAFI et al., 2010; DING et al., 2011, YU et al.,

2011; CHERNG et al., 2013). A aplicação de materiais poliméricos com finalidades terapêuticas está crescendo rapidamente e tem sido evidenciado em diversos campos como na engenharia de tecidos, implante de dispositivos médicos e órgãos artificiais, próteses, oftalmologia, odontologia, reparo ósseo entre outros (NAIR e LAURENCIN, 2007; JAHNO et al., 2010).

PU são uma importante classe de polímeros que nos últimos anos vem sendo estudada, pois além de possuir ampla aplicação tecnológica em diferentes áreas, apresenta boas propriedades físicas, mecânicas e biocompatibilidade com tecidos (CHEM et al., 2000; BOUCHEMAL et al., 2004; MAAFI et al., 2010).

### **2.9.2 Nanopartículas de poli(ureia-uretano)**

Estudos recentes (VERMETTE et al., 2001; TORINI et al., 2005; ZANETTI-RAMOS et al., 2006; BUDRIENE et al., 2007; GAUDIN e SINTES-ZYDOWICZ, 2008; DING et al., 2011, YU et al., 2011; MORRAL-RUÍZ et al., 2012; VALERIO et al., 2013; CHERNG et al., 2013) vêm apontando para um novo segmento de partículas biocompatíveis e biodegradáveis aplicadas para a liberação controlada de fármacos. As vantagens da utilização de nanopartículas incluem a liberação controlada ou prolongada da substância nelas encontradas, redução de efeitos adversos associados à substância, proteção de compostos da inativação antes de atingirem o local de ação, o aumento da penetração intracelular e o aumento da atividade farmacológica (SANTOS e FIALHO, 2008; MORRAL-RUÍZ et al., 2012). Em estudos recentes MORRAL-RUÍZ e colaboradores (2012) apresentaram a síntese de nanopartículas poli(ureia-uretano) recobertas com lisina via nanoemulsão água/óleo. Os autores descrevem a importância do revestimento das nanopartículas com moléculas hidrofílicas para aplicações farmacêuticas a fim de evitar o reconhecimento dessas pelos mecanismos de defesa celular, fazendo assim com que o fármaco não alcance o alvo.

Obtenção de nanocápsulas de PU envolve reações químicas e procedimentos de síntese relativamente complexos em relação a outros polímeros comumente utilizados em aplicações biomédicas, no entanto a utilização de PU como nanocarreador de fármacos vem mostrando um crescente interesse na área farmacêutica e biomédica. Há uma grande preocupação na literatura sobre a toxicidade de poliuretanos e seus produtos de biodegradação. Isto é particularmente verdadeiro para os poliuretanos derivados de diisocianatos aromáticos que podem ser biodegradado em produtos tóxicos de compostos diaminas aromáticas (da SILVA et al., 2010). A literatura reporta poucos trabalhos envolvendo tanto

estudos sobre citotoxicidade celular das nanopartículas de PU quanto, estudos envolvendo a toxicidade dos produtos de degradação gerados na degradação das nanopartículas de PU.

CRISANTE e colaboradores (2009) em estudo da toxicidade das nanopartículas de PU em células de carcinoma de laringe observaram que os resultados obtidos apresentaram-se satisfatórios uma vez que não foi observado resistência ou crescimento das células quando em contato com as nanopartículas de PU a uma concentração de 0,25 µg/mL. WANG e colaboradores (2013) avaliaram nanopartículas de poliuretano sintetizadas com os monômeros diisocianato de hexametileno e n-metil dietanolamina (HDI-MDEA). Os autores verificaram em estudos *in vitro* com células umbilicais humanas que embora a atividade tumoral apresentasse redução, as células apresentaram 100 % de viabilidade celular quando expostas a uma concentrações de 250 µg/mL.

Em estudos da toxicidade celular envolvendo os produtos da degradação da PU da Silva e colaboradores (2010) usando células epiteliais da retina (ARPE-19) cultivadas em contacto com os produtos da degradação de filmes de poliuretano, apresentaram resultados satisfatórios em relação à toxicidade celular uma vez que quando em contato com as células ARPE-19 as mesmas não apresentaram morte celular. OLIVEIRA e colaboradores (2012) estudaram o desenvolvimento de um novo vidro bioativo de poliuretano (HDI:PCL) para aplicação em tecidos ósseos, os autores mostram que os produtos de degradação apresentaram baixa toxicidade em estudos *in vivo* apresentando ainda baixa osteocondutividade, medida essa fundamental para o crescimento e migração das células nos scaffolds.

## **2.10 Considerações Finais**

O estado da arte revelou o potencial em utilizar pólios naturais como fonte de hidroxila na reação de poliadição para a formação de nanopartículas de poli(ureia-uretano) a partir do isocianato IPDI, assim como a utilização de surfactantes biodegradáveis e atóxicos com caráter não iônico e estudo da atuação destes surfactantes biodegradáveis nos sistemas reacionais. Neste contexto, o presente trabalho aborda a produção de nanopartículas de poli(ureia-uretano) através da poliadição entre os monômeros diisocianato IPDI e do poliálcool de mamona utilizando surfactantes biodegradáveis. O sistema reacional foi definido em função das características dos compostos envolvidos na reação, das condições ótimas para reação entre os monômeros e com base em alguns dados existentes na literatura para sistemas semelhantes. Ainda as nanopartículas de poli(ureia-uretano) produzidas neste trabalho foram obtidas utilizando

diisocianato alifático, a fim de evitar a formação de produtos de degradação tóxicos uma vez que o objetivo deste trabalho é a liberação de fármaco.

## REFERÊNCIAS

ANTONIETTI, M; LANDFESTER, K. Polyreactions in miniemulsions. Progress in Polymer Science, v. 27, p. 689-757, 2002.

ARAÚJO, P. H. H. Distribuição de Tamanho de Partícula em Sistemas Heterogêneos de Polimerização. Tese de Doutorado em Engenharia Química – Programa de Engenharia Química /COPPE – UFRJ, Rio de Janeiro. p. 273, 1999.

ASUA, J.M., Miniemulsion polymerization. Progress in Polymer Science. v. 27, 1283-1346, 2002.

BOCK, M. Polyurethanes for Coatings. Hannover, Germany: Ulrich Zorll, 2001, 237 p.

BOUCHEMAL, K.; BRIANÇON. S.; PERRIER. E.; FESSI, H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimization. International Journal of Pharmaceutics. v.280. 241–251. 2004a.

BUDRIENE, S.; ROMASKEVIC, T.; PIELICHOWSKI, K.; PIELICHOWSKI, J. Synthesis and characterization of polyurethane microspheres and their application for immobilization of maltogenase. Polymers for advanced technologies. 18: 67–71, 2007.

CHEN, K.-Y., KUO, J.-F., CHEN, C.-Y. Synthesis, characterization and platelet adhesion studies of novel ion-containing aliphatic polyurethanes. Biomaterials 21, 161–171, 2000.

CHERNG, J. Y.; HOU, T. Y.; SHIH, M. F.; TALSMA, H.; HENNINK, W. E. Polyurethane-based drug delivery systems. International Journal of Pharmaceutics. 450, 145– 16, 2013.

CHUN, B. C.; CHONG, H. M.; CHUNG, Y-C. Effect of glycerol cross-linking and hard segment content on the shape memory property of polyurethane block copolymer. Journal of Material Science. 42, 6524–653, 2007.

COUTINHO, F. M. B.; DELPECH, M. C.; ALVES, T. L.; GOMES, A. S. Síntese e Caracterização de Poli(uréia-uretano)s em Dispersão Aquosa à Base de Polibutadieno Líquido Hidroxilado e Diferentes Diisocianatos. *Polímeros*. 12, 248-254, 2002.

CRISANTE, F.; FRANCOLINI, I.; BELLUSCI, M.; MARTINELLI, A.; D'ILARIO, L.; PIOZZI, A. Antibiotic delivery polyurethanes containing albumin and polyallylamine nanoparticles. *European journal of pharmaceutical science*. 36, 555-564, 2009.

da SILVA, G. R.; da SILVA-CUNHA, A. J.; BEHAR-COHEN, F.; AYRES, E.; ORÉFICE, R. L. Biodegradation of polyurethanes and nanocomposites to non-cytotoxic degradation products. *Polymer degradation and stability*. 95(4): 491, 2010.

DE OLIVEIRA, A. A. R.; DE CARVALHO S. M.; LEITE, M. F.; ORÉFICE, R. L.; DE MAGALHÃES, P. M. Development of biodegradable polyurethane and bioactive glass nanoparticles scaffolds for bone tissue engineering applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 100B (5): 1387-1396, 2012.

DELPECH, M. C.; COUTINHO, F. M. B. Waterborne anionic polyurethanes and poly(urethane-ureas): influence of the chain extender on mechanical and adhesive properties. *Polymer Testing*, Rio de Janeiro, Brasil, 19, p. 939-952, 2000.

DING, M.; HE, X.; WANG, Z.; LI, J.; TAN, H.; DENG, H.; FU, Q.; GUC, Q. Cellular uptake of polyurethane nanocarriers mediated by gemini quaternary ammonium. *Biomaterials*. 32 (35): 9515-9524, 2011.

DODGE, J. *Polyurethanes and Polyureas. Synthetic Methods in Step-Growth Polymers*. United States of America: John Wiley & Sons, 2003. p. 197-258.

MARCOS-FERNÁNDEZ, A.; ABRAHAM, G. A.; ABRAHAM, J. L.; ROMAN, J. S. Synthesis and characterization of biodegradable non-toxic poly(ester-urethane-urea)s based on poly( $\epsilon$ -caprolactone) and amino acid derivatives. *Polymer*. 47, p. 785-798, 2006.

GAUDIN, F.; SINTES-ZYDOWICZ, N. Core-shell biocompatible polyurethane nanocapsules obtained by interfacial step polymerisation in

miniemulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* 331, 133–142, 2008.

HARE, C. H. Polyurethanes. In: *Protective Coatings: Fundamentals of Chemistry and Composition.* Pensilvania: Technology Publishing Company, p. 239-266, 1994.

IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology*, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997.

JAHNO, V. D.; SIQUEIRA DE, F. J.; CARVALHO, N. A.; LIGABUE, R.; DULLIUS, J.; EINLOFT, S. Avaliação da degradação in vitro de scaffolds de poli(uréia-uretano) bioabsorvível. *Anais do 6th Latin American Congresso f Artificial Organs and Biomaterials.* 2010.

KOUTROUBAS, S. D.; PAPAKOSTA, D. K.; DOITSINIS, A. Adaptation and yielding ability of castor plant (*Ricinus communis* L.) genotypes in a Mediterranean climate. *European Journal of Agronomy*, V. 11, 227-237, 1999.

KIRK-OTHMER, E. T.. Glycerol. In: *American Society of Chemistry. Encyclopedia of chemical technology.* 5.ed.. New York: John Wiley, 432p, 2007.

KRÓL, P. Synthesis methods, chemical structures and phase structures of linear polyurethanes. Properties and applications of linear polyurethanes in polyurethanes elastomers, copolymers and elastomers. *Progress in materials science*, v. 52, p. 915-1015, 2007.

LANDFESTER, K. Synthesis of colloidal particles in miniemulsions. *Annual Review of Materials Research.* 36, 231–279, 2006.

LADEMANN, J.; PATZELT, A.; RICHTER, H.; LADEMANN, O.; BAIER, G.; BREUCKER, L.; LANDFESTER, K. Nanocapsules for drug delivery through the skin barrier by tissue-tolerable plasma. *LASER PHYSICS LETTERS.* 10, 083001, 2013.

LI, J.; KAO, W. J. Synthesis of Polyethylene Glycol (PEG) Derivatives and PEGylated–Peptide Biopolymer Conjugates. *Biomacromolecules*, v.4, 1055-1067, 2003.

LIGABUE, R. A. Estudo da reação catalítica de formação de uretano a partir do Hexametilendiisocianato. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. Porto Alegre, 1995.

LIGABUE, R. A.; MONTEIRO A. L.; SOUZA, de R. F.; SOUZA de, M. O. Influence of the alcohol nature on the catalytic properties of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  and  $\text{Cu}(\text{acac})_2$  in the formation of urethane from a diisocyanate. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, v. 157, p 73-78, 2000.

LIMA, V. de. Estudo de catalisadores organometálicos na síntese de poliuretanos. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais. Porto Alegre, 2007.

MAAFI, EL M.; MALEK, F.; TIGHZERT, L. Synthesis and Characterization of New Polyurethane Based on Polycaprolactone. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 115, 3651–3658, 2010.

MARK, H. F.; OVERBERGER, C. G.; MENGES, G. *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*. Wiley-Interscience: New York, 1988.

MATYJASZEWSKI, K.; GNANOU, Y.; LEIBLER, L. *Macromolecular engineering: precise synthesis, materials properties, applications vol. 1*, Wiley. p. 295–349, 2007.

MORRAL-RUÍZ, G.; SOLANS, C.; GARCÍA, M. L.; GARCÍA-CELMA, M. J. *Langmuir*, 28, 6256 – 6264, 2012.

MUTLU, H.; MEIER, M. A. R. Castor oil as a renewable resource for the chemical industry. *Europe Journal Lipids Science Technology*. v. 112, 10–30, 2010.

NAIR, L. S; LAURENCIN, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*. v. 32, 762-798, 2007.

OLIVEIRA de, Vitória M. S. Síntese e caracterização de dispersões aquosas de poli(uréia-uretano). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica Do Rio Grande Do Sul - PUC. Porto Alegre, 2008.

OSHIMA, M. Efeitos farmacológicos e morfológicos do polietilenoglicol (peg 400) em preparações neuromusculares. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas – Unicamp. 87p, 2009.

RANDALL, D.; LEE, S. The Polyurethanes Book. Wiley. 395p. 2002.

RIEUX, A.; FIEVEZ, V.; GARINOT, A.; SCHNEIDER, Y-J.; PRÉAT, V. Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: A mechanistic approach. Journal of controlled release. 116, p. 1-27, 2006.

ROGERS, M. E.; LONG, T. E. TURNERS, S. R. Synthetic methods in step-growth polymers. Wiley-Interscience, p.1-16, 2003.

ROMIO, A. P.; SAYER, C.; ARAUJO, P. H. H.; AL-HAYDARI, M.; WU, L.; DA ROCHA, S. R. P Nanocapsules by Miniemulsion Polymerization with Biodegradable Surfactant and Hydrophobe. Macromolecular Chemistry and Physics. 210, p.747–751, 2009.

SANTOS, R. M. M.; FIALHO, S. L. Nanopartículas – Uma alternativa para a administração de biofármacos. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. 37, 52-60, 2008.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. Química Nova, Vol. 26, No. 5, 726-737, 2003

SAUNDERS, J. H.; FRISCH, K. C.; Polyurethane Chemistry and Technology Part I Chemistry, Interscience Publishers: New York, 1987.

SELKE, S. E. M.; CULTER, J. D.; HERNANDEZ, R. J. Plastics packaging: Properties, processing, applications, and regulations, Hanser, p.29, 2004.

SERVES, V. Espumas flexíveis de poli(uréia-uretano) à base de polióis de óleo de mamona etoxilado. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em Química - Unicamp. 89p, 2007.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. Química Nova, 26, p. 726-737, 2003.

SILVA da, G. R.; SILVA-CUNHA, A. J.; BEHAR-COHEN, F.; AYRES, E.; ORÉFICE, R. L. Biodegradation of polyurethanes and nanocomposites to non-cytotoxic degradation products. *Polymer Degradation and Stability* 95, 491-499, 2010.

STEINMACHER, F. R. Síntese de nanopartículas poliméricas de poli(acetato de vinila) via polimerização em miniemulsão. Dissertação de mestrado. Programa de Pós Graduação em Engenharia Química e de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis. 167p, 2010.

SUBRAMANI, S.; CHEONG, I. W.; KIM, J. H. Chain extension of water-borne polyurethanes from methyl ethyl ketoxime/ $\epsilon$ -caprolactam-blocked aromatic isocyanates. *Progress in organic coatings*, v. 51, p.329-338, 2004.

TIARKS, F.; LANDFESTER, K.; ANTONIETTI, M. One-Step Preparation of Polyurethane Dispersions by Miniemulsion Polyaddition *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*. V. 39, 2520-2524, 2001.

TORINI, L.; ARGILLIER, J. F.; ZYDOWICZ, N. Interfacial Polycondensation Encapsulation in Miniemulsion. *Macromolecules*. 38, 3225-3236, 2005.

WEGENER, G. BRANDT, M.; DUDA, L.; HOFMANN, J.; KLESCZEWSKI, B.; KOCH, D.; KUMPF, R-J.; ORZESEK, H.; PIRKL, H-G.; SIX, C.; STEINLEIN, C.; WEISBECK, M. Trends in industrial catalysis in the polyurethane industry. *Applied Catalysis A: General*, v. 221, p. 303-335, 2001.

VALERIO, A.; ARAUJO, P. H. H.; SAYER, C. Preparation of poly(urethane-urea) nanoparticles containing açai oil by miniemulsion polymerization. *Polímeros*, 2013 (*in press*).

VALLIYAPPAN, T.; BAKHSHI, N.N.; DALAI, A.K.; Pyrolysis of glycerol for the production of hydrogen or syn gas. *Bioresearch Technology*, v. 99, 4476-4483, 2008.

VERMETTE, P.; GRIESSER, H. J.; LAROCHE, G.; GUIDOIN, R. Biomedical applications of polyurethanes. *Landes Bioscience*, 273p. 2001.

VILAR, W. D. Química e Tecnologia dos Poli(uréia-uretano)s. 3ª edição. Rio de Janeiro, Braisl: Vilar consultoria. 400 p. 2008.

VROMAN, I.; TIGHZERT, L. Biodegradable Polymers. A Review. Materials. 307-344, 2009.

YU, L.; L. ZHOU; DING, M.; LI, J.; TANA, H.; FU, Q.; HE, X. Synthesis and characterization of novel biodegradable folate conjugated polyurethanes. Journal of Colloid and Interface Science. 358, 376-383, 2011.

ZANETTI-RAMOS, B. G.; LEMOS-SENNA, E.; CRAMAIL, H.; CLOUTET, E.; BORSALI, R.; SOLDI, V. Polyurethane nanoparticles from a natural polyol via miniemulsion technique. Polymer. v.47, 8080-8087, 2006.

ZANETTI-RAMOS, B.; SOLDI, V.; LEMOS-SENNA, E.; BORSALI, R. Use of Natural Monomer in the Synthesis of Nano- and Microparticles of Polyurethane by Suspension-Polyaddition Technique. Macromolecular Symposium. 229, 234–245, 2005.

ZHANG, Q.; SHI, Y.; ZHAN, X.; CHEN, F. In situ miniemulsion polymerization for waterborne polyurethanes: Kinetics and modeling of interfacial hydrolysis of isocyanate. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 393(0): 17-26, 2012.

ZIA, K. M.; BHATTI, H. N.; BHATTI, I. A. Methods for polyurethane and polyurethane composites, recycling and recovery: A review. Reactive & Functional Polymers. v.67, 675–692, 2007.

WANG, A.; GAO, H.; SUN, Y.; SUN, Y-L.; YANG, Y-W.; WU, G.; WANG, Y.; FAN, Y.; MA, J. Temperature- and pH-responsive nanoparticles of biocompatible polyurethanes for doxorubicin delivery. International Journal of Pharmaceutics. 30, 441, 2013.



## CAPITULO III

### SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE POLI(UREIA-URETANO) CONTENDO ÓLEO DE AÇAÍ VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO

#### 3.1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos nanopartículas poliméricas (NPs) ganharam crescente popularidade como veículos promissores para administração de medicamentos e outros agentes (DING et al., 2011; SOUTO et al., 2012). O desenvolvimento de nanopartículas de poli(ureia-uretano) (PU) tem atraído muita atenção devido as suas excelentes propriedades físicas assim como seu potencial para uma variedade de aplicações farmacêuticas, médicas e de cosméticos, tais como carreadores de fármacos (SOUTO et al., 2012; DING et al., 2011; ZANETTI-RAMOS et al., 2010; GAUDIN e SINTES-ZYDOWICZ, 2008; TORINI et al., 2005).

Nanopartículas de PU podem ser sintetizados através de diferentes técnicas, tais como polimerização em miniemulsão e polimerização interfacial (ZANETTI-RAMOS et al., 2006; BOUCHEMAL et al., 2004; JABBARI e KHAKPOUR, 2000). Miniemulsão é classicamente definida como uma dispersão aquosa de gotículas de óleo relativamente estável preparadas por um sistema contendo a fase orgânica, água, um surfactante e um coestabilizador (EL-AASSER e SUDOL, 2004; ANTONIETTI e LANDFESTER, 2002; ASUA, 2002). A ideia da polimerização em miniemulsão é iniciar a polimerização em cada uma das gotas pequenas e estáveis, isso significa que a polimerização ocorre em pequenas nanogotas ou nanoreatores permitindo assim a encapsulação de diferentes compostos.

Como relatado por TIARKS e LANDFESTER, (2001), quando as partículas de PU são obtidas por polimerização em miniemulsão direta para um sistema óleo em água dois caminhos reacionais podem ocorrer: 1) poliadição do isocianato com o polioliol para formar uretano e 2) hidrólise do isocianato para formar ureia e CO<sub>2</sub>, sendo que esta reação resulta em uma perda de estequiometria, bem como na formação de polímeros com baixa massa molar (ZHANG et al., 2012; BARRÉRE e LANDFESTER, 2003), logo, para algumas aplicações este caminho de reação deve ser minimizado. Neste sentido, para reduzir a reação com água que compõe a fase contínua, faz-se necessário o uso de um diisocianato com menor reatividade como o diisocianato de isofozona (IPDI) (TIARKS e LANDFESTER, 2001; TORINI et al., 2005; COUTINHO et al., 2002).

Diversos óleos vegetais compostos principalmente de triacilglicerol têm atraído à atenção da indústria farmacêutica e de

cosméticos devido a suas propriedades. Óleo da polpa de açaí (*Euterpe oleracea*) que possui propriedades de regeneração da epiderme, estímulo para a cicatrização e equilíbrio da oleosidade (MACHADO, 2010; NASCIMETO et al., 2008). Neste capítulo, descreveremos a síntese de nanopartículas de PU através da polimerização em miniemulsão com a incorporação de óleo de açaí. A influência das condições reacionais como tipo de polioli, temperatura de reação, concentração e tipo de surfactante na obtenção de NPs de PU foi verificado. Estes resultados são apresentados em VALÉRIO et al. (2013).

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1 Reagentes**

O monômero diisocianato de isofoforona (IPDI, 98 %, massa molar (Mw) 222 g/mol) foi fornecido pela empresa Killing S.A. Os polióis utilizados foram óleo de mamona (100%, Mw 928 g/mol), triacilglicerol em que a maioria das cadeias de ácidos graxos são compostos por ácido ricinoléico (SHAHIDI, 2005), poli(etilenoglicol) (PEG) ácido graxo mono-insaturado contendo dois grupos hidroxila, com massa molar média 950-1050 g/mol (PEG1000, Linfar) ou 380-420 g/mol (PEG 400, Sigma Aldrich). Como coestabilizador foi utilizado o óleo de açaí, um triacilglicerol que predominantemente apresenta ácidos graxos monoinsaturados (ácido oleico) em sua composição, foi fornecido pela empresa Beraca. Os surfactantes polisorbato 80 (Tween 80), Span 80 e Lutensol AT 25 foram adquiridos, respectivamente, da Oxiteno, Aldrich Sigma e BASF. Para as análises de massa molar o solvente tetra-hidrofurano (THF, Merk) foi utilizado. Os reagentes foram utilizados tal como recebidos.

### **3.2.2 Polimerização em miniemulsão**

As NPs de PU foram sintetizadas através da polimerização em miniemulsão de acordo com o procedimento descrito a seguir. A fase aquosa foi preparada com 2 g (20 % em massa) de surfactante em relação à fase orgânica (salvo menção em contrário). A fase orgânica foi preparada com 3,3 g de óleo de açaí (50 % em massa em relação à fase orgânica), 0,60 g de PEG (10 % em massa em relação aos monômeros), IPDI e óleo de mamona, com razão molar 1,5:1. A fase aquosa foi adicionada lentamente à fase orgânica mantida sob agitação magnética durante 5 min a 40 °C. A miniemulsão foi então preparada por sonificação da emulsão anterior durante 120 s com amplitude de 70 % (Fisher Scientific, -

Dismembrador Ultrasonic 500, 400 W). As reações de polimerização em miniemulsão foram realizadas a temperatura constante (70 °C, a menos que mencionado de outro modo), baixa pressão (1 atm) durante 4 horas.

### 3.2.3 Caracterização

A massa molar das NPs PU foi determinada por cromatografia de permeação em gel (GPC) utilizando para tanto um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC, modelo LC-20A, Shimadzu) equipado com um detector de RID-10A, em THF, a 35 °C. O conjunto de colunas utilizado consiste em três colunas em série (300x8 mm GPC-801, 804 e GPC-GPC-807). As análises de HPLC foram realizadas por injeção de 20 µL de uma solução a 0,5 % em massa de polímero tendo como solvente tetrahidrofurano (THF, Merck), previamente filtrado através de um filtro de teflon com mesh de 450 nm. As distribuições de massa molar e massas molares médias foram calculadas com base em padrões de poliestireno entre 580 g/mol e 3,8 milhões g/mol.

Os produtos da reação foram verificados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), em modo de refletância total atenuada (ATR). A banda de absorção com a localização do pico a 2272 cm<sup>-1</sup>, devido à vibração de alongamento dos grupos isocianato N=C=O, foi utilizada para identificar o IPDI. A banda de absorção com a localização de pico entre 1680-1650 cm<sup>-1</sup> do grupo N-H de ureia e a banda de absorção entre 1740-1700 cm<sup>-1</sup>, devido ao alongamento da vibração de C=O do grupo de uretano, foram utilizados para identificar a PU, ao final do tempo de reação.

Os diâmetros médios das partículas (médias em intensidade - Dp<sup>z</sup>) foram medidos em duplicata utilizando equipamento de dispersão dinâmica de luz (DLS, Zetasizer Nano S, Malvern). A morfologia das NPs de PU foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG - JEOL JSM-6701F) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM 100 kV - JEM-1011). Para a análise de SEM as amostras foram liofilizadas, colocadas sobre um stub e cobertas com uma fina camada de ouro, para as análises de TEM as amostras foram diluídas em água (1:10) e gotejadas sobre um grid de cobre revestido com carbono.

## 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.3.1 Efeito da temperatura de reação

Para estudar o efeito da temperatura de reação, quatro reações foram realizadas a temperaturas entre 50 e 80 °C. O aumento da

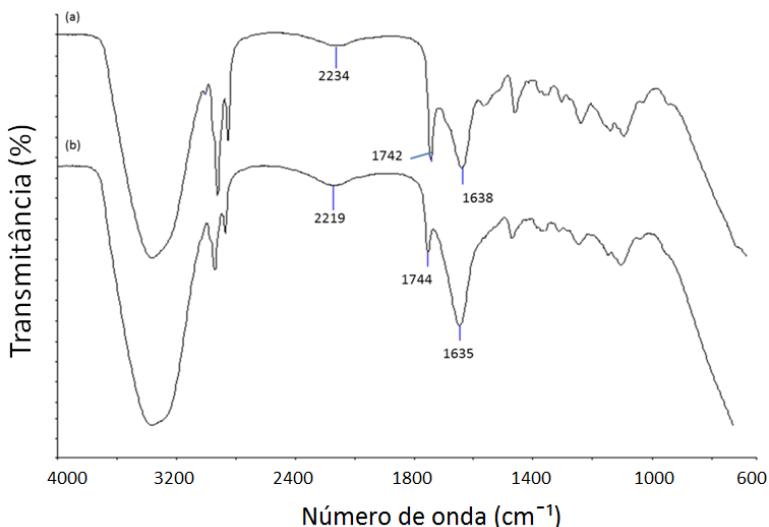
temperatura de reação de 50 a 60 °C e de 60 a 70 °C levou a um pequeno aumento da massa molar ponderal média (Mw), tal como mostrado na Tabela 2. O aumento da temperatura de reação para 80 °C, por outro lado, resultou em um decréscimo de Mw de 17297 g/mol para a reação A3 a 70 °C para 10320 g/mol, na reação A4 realizada a 80 °C. Esta diminuição está relacionada com as reações paralelas do grupo isocianato com água formando ligações ureia, resultando em menores massas molares. Isto ocorre, pois, a concentração de água na fase orgânica aumenta com a temperatura.

**Tabela 2** - Efeito da temperatura de reação nas propriedades das NPs de PU sintetizadas com óleo de açaí por polimerização em miniemulsão. Condições reacionais: razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG (vs monômeros), 20 % de Tween 80 e 50 % de óleo de açaí (vs fase orgânica), 4 horas de reação.

Reação	Temperatura (°C)	Dp (nm)	Mw (g/mol)	Mn (g/mol)
A1	50	269±1,41	14458	7506
A2	60	305±0,70	15699	7961
A3	70	225±2,82	17297	7574
A3*	70	218±2,04	18053	7756
A3**	70	230±2,41	18010	9033
A4	80	304±0,80	10320	6469

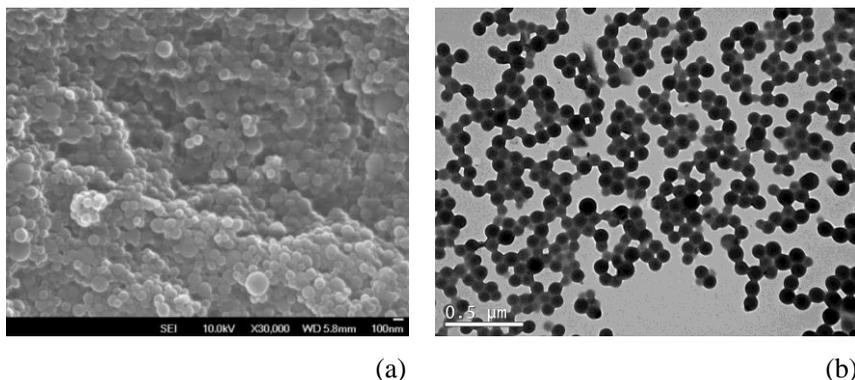
\* Duplicata e \*\* triplicata de reação A3.

Para confirmar se o aumento da massa molar da reação A3 (17297 g/mol) a 70 °C em comparação com A4 reação a 80 °C foi devido a uma menor formação de ligações de ureia, as amostras de PU destas duas reações foram analisadas por FTIR, como mostrado na Figura 7. As análises de FTIR confirmaram que quando a temperatura da reação foi elevada de 70 °C para 80 °C a razão entre a banda de absorção com a localização de pico entre 1680-1650 cm<sup>-1</sup> característico do grupo N-H da ureia e a banda de absorção de uretano (1740-1700 cm<sup>-1</sup>) foi mais intensa indicando maior formação de ureia a uma temperatura de reação mais elevada. Por conseguinte, para favorecer a reação do isocianato IPDI com o polioliol e levar a uma maior formação de ligações uretano, 70 °C foi escolhido como a temperatura de reação para as reações subsequentes.



**Figura 7** - FTIR das NPs de PU com óleo de açai, sintetizadas via polimerização em miniemulsão. (a) 70 °C e (b) 80 °C.

As nanopartículas da reação A3, que apresentaram a maior massa molar (17297 g/mol), foram observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG), e são apresentadas na Figura 8. A análise FEG-SEM permitiu verificar a morfologia esférica das NPs de PU com óleo de açai. A maioria das partículas apresentou diâmetro de partícula de 100 nm e a presença de algumas partículas maiores levou ao aumento do diâmetro médio em intensidade ( $D_p^z$ ) medido por DLS (225 nm com PDI = 0,221). Na Tabela 2 pode-se observar que quando a temperatura da reação foi aumentada de 50 °C a 80 °C a variação do diâmetro de partícula não apresentou uma tendência clara.



**Figura 8** - Imagens de (a) MEV-FEG e (b) TEM das NPs de PU com óleo de açaí obtidas através de polimerização em miniemulsão com razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG1000 (vs monômeros), 20 % de Tween 80 e 50 % de óleo de açaí (vs fase orgânica).

### 3.1.1 Influência do tipo de polioli

A Tabela 3 mostra os resultados da polimerização em miniemulsão utilizando diferentes tipos de polióis. Comparando as reações em que o PEG 400 e PEG 1000 foram utilizados, como polioli, pode-se observar que com o aumento da massa molar de PEG400 para PEG1000 houve um aumento da massa molar de PU de 5056 g/mol para 7213 g/mol. Por outro lado, quando o glicerol foi utilizado, obteu-se NPs de PU com menor massa molar ( $M_w = 4324$  g/mol). Estes resultados indicam que o aumento da massa molar do polioli leva a um aumento da massa molar do polímero e este efeito pode ser atribuído ao aumento do tamanho das unidades de repetição na cadeia de PU. Esse efeito também foi observado com a introdução de PEG como comonômero do óleo de mamona, sendo esse efeito mais pronunciado quando PEG1000 foi usado.

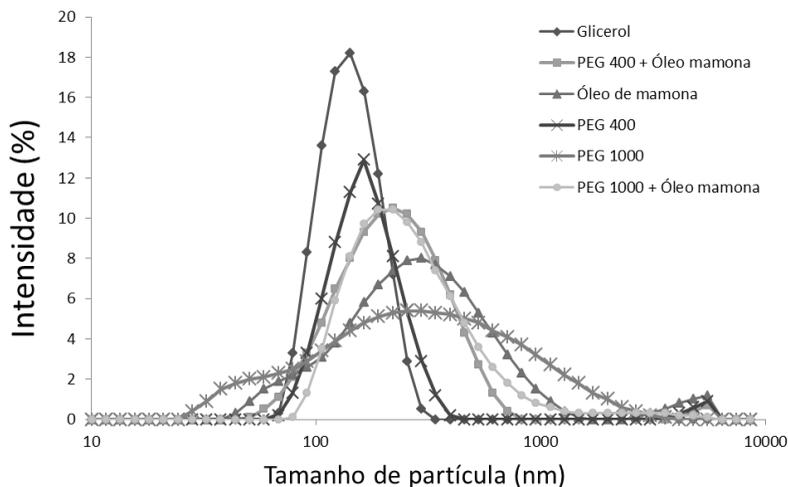
**Tabela 3** - Efeito do tipo de polioliol nas propriedades das NPs de PU com óleo de açaí preparadas via polimerização em miniemulsão. Condições reacionais: razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG (vs monômeros), 20 % de Tween 80 e 50 % de óleo de açaí (vs fase orgânica), 70 °C, 4 horas de reação.

<b>Polioliol</b>	<b>Polioliol Mw (g/mol)</b>	<b>Dp (nm)</b>	<b>PDI</b>	<b>Mw (g/mol)</b>	<b>Mn (g/mol)</b>
Óleo de mamona	928	179±3,53	0,253	8999	5753
Óleo de mamona <sup>a</sup>	1000/928	225±2,82	0,221	17297	7574
Óleo de mamona <sup>b</sup>	400/928	197±2,61	0,240	11178	6861
PEG 1000	1000	191±4,94	0,507	7213	5465
PEG 400	400	124±4,17	0,172	5056	3848
Glicerol	92	135±1,93	0,071	4324	3362

<sup>a</sup> 10 % de PEG 1000 em relação aos monômeros

<sup>b</sup> 10 % de PEG 400 em relação aos monômeros

O tipo de polioliol também influenciou o tamanho das partículas e o índice de polidispersividade (PDI). Enquanto a reação com PEG 400 resultou em partículas com Dp igual a 124 nm (com PDI = 0,172), a reação tendo PEG 1000 como polioliol, levou à formação de NPs com Dp igual a 191 nm e PDI = 0,507. Este aumento de Dp e PDI com a massa molar do PEG é atribuído ao aumento da viscosidade da fase dispersa tornando a miniemulsificação mais difícil. Uma vez que as condições de miniemulsificação não foram variadas entre as reações para permitir uma melhor comparação, verifica-se que a miniemulsificação foi mais eficaz para sistemas que apresentam fase dispersa com viscosidade mais baixa. Da mesma forma, quando o PEG foi utilizado como comonômero do óleo de mamona um pequeno aumento foi observado no tamanho das partículas, especialmente quando foi utilizado PEG 1000. ZANETTI-RAMOS et al. (2006) observaram um aumento no diâmetro das partículas de 246 nm para 261 nm, quando o PEG 400 foi usado como co-monômero na síntese de PU com óleo de mamona e IPDI.



**Figura 9** - Distribuições de tamanho de partículas (determinadas por DLS) das NPs de PU com óleo de açaí, sintetizadas por polimerização em miniemulsão com diferentes tipos de polioli.

Enquanto polióis com baixa massa molar como PEG 400 e especialmente o glicerol resultaram em partículas menores, com distribuições de tamanhos estreitas, como mostrado na Figura 9, os polióis de maior massa molar como PEG 1000 e óleo de mamona, levaram à formação de distribuições de tamanhos de partículas mais amplas, como observado nas imagens de MEV-FEG e TEM (Figura 8).

### 3.3.2 Efeito do tipo do surfactante

A estabilidade coloidal é geralmente determinada pelo tipo e quantidade de surfactante (TORINI et al., 2005). Neste capítulo, foram avaliados diferentes surfactantes não iônicos, resultando em dispersões poliméricas com diferentes tamanhos de partícula e estabilidade. De acordo com os resultados mostrados na Tabela 4, os surfactantes com um balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) com valor entre 15 e 16, tal como o Tween 80 ou a combinação entre Luthensol AT25/Span 80 resultou em partículas menores (respectivamente 225 nm e 238 nm), com uma distribuição (PDI) mais estreita 0,221 e 0,241, respectivamente.

**Tabela 4** - Efeito do tipo de surfactante nas propriedades das NPs de PU com óleo de açaí, sintetizadas via polimerização em miniemulsão. Condições reacionais: razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG1000 (vs monômeros), 50% de óleo de açaí (vs fase orgânica), 20 % surfactante, 70 °C e 4 horas de reação.

<b>Surfactante</b>	<b>HLB</b>	<b>Dp (nm)</b>	<b>PDI</b>
Tween 80	15	225±2,82	0,221
Span 80	4,3	-	-
Tween 80/Span 80*	12	338±8,13	0,297
Lutensol AT 25	20	469±7,70	0,517
Lutensol AT25/Span 80**	16	238±4,24	0,241

\*Tween 80/Span 80 razão massica: 72/28 e \*\*Lutensol AT 25/Span 80 razão mássica: 74,5/25,5.

Além disso, os tamanhos médios e índice de polidispersão das nanopartículas de PU com óleo de açaí sintetizado com os surfactantes citados acima não apresentam variações do diâmetro de partículas após um ano de armazenamento a aproximadamente 4 °C. Os surfactantes com valores de HLB entre 8 e 18 são indicados para sistemas água-óleo (O/W) e surfactantes com valores de HLB mais baixos são indicados para sistemas água-óleo (W/O) (ROSEN, 2004). Sendo assim, como esperado, quando Span 80 com um HLB = 4,3 foi utilizado como surfactante as miniemulsões encontradas apresentaram-se instáveis, com a formação de precipitado após 4 horas. Por outro lado, quando Lutensol AT 25 (HLB = 20) foi utilizado como surfactante o diâmetro médio das partículas encontrado foi 469 nm, com uma distribuição mais ampla (PDI = 0,517).

### **3.3.3 Efeito da concentração de surfactante**

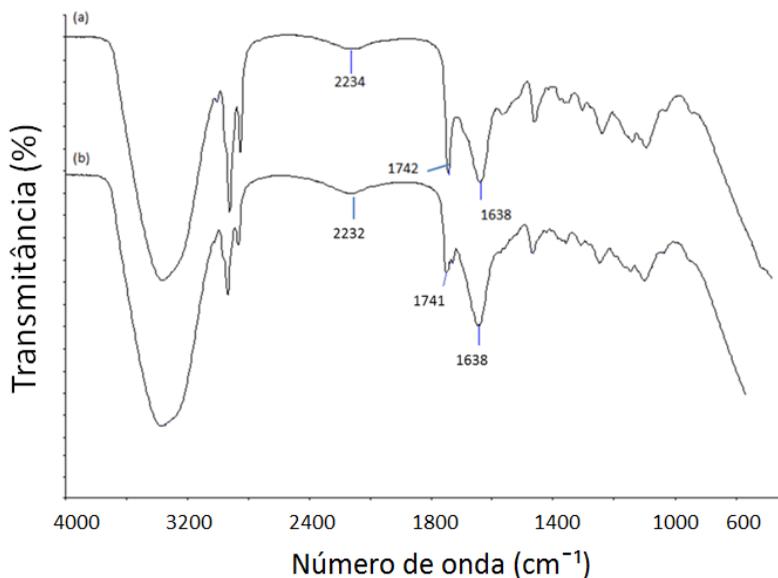
A concentração de surfactante é outro fator importante na polimerização em miniemulsão, concentrações mais elevadas de surfactante permitem a estabilização de grandes áreas interfaciais e, portanto, favorece a formação de pequenas gotículas/partículas. No entanto, a concentração do surfactante na fase contínua de uma miniemulsão deve estar abaixo da sua concentração micelar crítica (CMC) para evitar a presença de micelas. Na seção anterior, foi mostrado que um surfactante não iônico como Tween 80 pode ser utilizado de forma eficiente na síntese de NPs PU com óleo açaí. Aumentando a quantidade de surfactante Tween 80 entre 5 % a 20 % (ver Tabela 5) é possível reduzir o tamanho das NPs de PU, bem como aumentar a massa molar do polímero final.

**Tabela 5** - Efeito da concentração de surfactante Tween 80 nas propriedades das NPs de PU com óleo de açaí, sintetizadas via polimerização em miniemulsão. Condições reacionais: razão molar IPDI/óleo de mamona = 1,5, 10 % de PEG1000 (vs monômeros), 50 % de óleo de açaí (vs fase orgânica), 70 °C, 4 horas de reação.

<b>Tween 80 (wt %)</b>	<b>Dp (nm)</b>	<b>PDI</b>	<b>Mw (g/mol)</b>	<b>Mn (g/mol)</b>
5	406±6,36	0,309	10630	6504
10	331±5,65	0,266	12654	6991
20	225±2,82	0,221	17297	7574

Aumentando a concentração de Tween 80 de 5 % a 20 % resultou em uma diminuição no tamanho das partículas (Tabela 5), a partir de 406 nm para 225 nm, o mesmo comportamento pode ser observado para o índice de polidispersão, que foi reduzido de 0,309 para 0,221, respectivamente, para as concentrações de 5 % e 20 %. O aumento da concentração de Tween 80 auxilia na estabilização das gotas do monômero durante o período de sonificação diminuindo assim a coalescência e deste modo, conduzindo à formação de partículas pequenas com uma distribuição mais estreita.

O aumento da massa molar das nanopartículas de PU de 10523 g/mol quando 5 % de Tween 80 foi utilizado para 17297 g/mol utilizando 20 % de Tween 80 pode ser relacionado a uma maior cobertura de partículas de PU quando 20 % de Tween 80 foi utilizado, diminuindo a reação entre os grupos isocianato e a água e conseqüentemente, diminuindo a formação de grupos de ureia, que estão associados com a formação de polímero de massa molar mais baixa. Na Figura 10 pode-se observar que a banda de absorção com a localização de pico entre 1680-1650  $\text{cm}^{-1}$ , típico da ligação N-H, foi mais intensa para a reação com concentração mais baixa de surfactante, indicando maior formação de grupos ureia em comparação com a banda de absorção de uretano localizada entre 1740-1700  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 10** - FTIR das NPs de PU com óleo de açaí, sintetizadas via polimerização em miniemulsão. (a) 20 % de Tween 80 e (b) 5 % Tween 80.

### 3.4 CONCLUSÕES

Nesta etapa do trabalho, foi mostrado que a escolha da temperatura da reação e do tipo de poliálcool é muito importante na síntese de nanopartículas de PU com óleo de açaí, pois ambos influenciam fortemente a massa molar do polímero formado. O tamanho das NPs de PU e a massa molar também foram influenciados pelo tipo de surfactante e a pela sua concentração. O surfactante não iônico Tween 80 permitiu a obtenção de NPs de PU com 225 nm, com uma massa molar em torno 17000 g/mol. A morfologia da partícula foi verificada por microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão. A espectroscopia FTIR permitiu confirmar o término da polimerização, ausência da banda referente ao grupo isocianato, e verificar os produtos obtidos no final das reações.

### 3.5 BIBLIOGRAFIA

ANTONIETTI, M; LANDFESTER, K. Polyreactions in miniemulsions. *Progress in Polymer Science*. 27, 689–757, 2002.

ASUA, J. M. Miniemulsion polymerization. Progress in polymer science. 27, 1283-1346, 2002.

BARRÉRE, M.; LANDFESTER, K. High Molecular Weight Polyurethane and Polymer Hybrid Particles in Aqueous Miniemulsion. Macromolecules. 36, 5119-5125, 2003.

BOUCHEMAL, K.; BRIANÇON, S.; PERRIER, E.; FESSI, H.; BONNET, I.; ZYDOWICZ, N. International Journal of Pharmaceutical. 269, 89, (2004).

COUTINHO, F. M. B.; DELPECH, M. C.; ALVES, T. L.; GOMES, A. S. Síntese e Caracterização de Poli(uréia-uretano)s em Dispersão Aquosa à Base de Polibutadieno Líquido Hidroxilado e Diferentes Diisocianatos. Polímeros. 12, 248-254, 2002.

DING, M.; HE, X.; WANG, Z.; LI, J.; TAN, H.; DENG, H.; FU, Q.; GUC, Q. Cellular uptake of polyurethane nanocarriers mediated by gemini quaternary ammonium. Biomaterials 32(35): 9515-9524, 2011.

EL-AASSER, M. S.; SUDOL, E. D. Miniemulsions: overview of research and applications. Journal of Coatings Technology and Research. 1, p. 21-30, 2004.

GAUDIN, F.; SINTES-ZYDOWICZ, N. Core-shell biocompatible polyurethane nanocapsules obtained by interfacial step polymerisation in miniemulsion. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. 331, 133-142, 2008.

JABBARI, E.; KHAKPOUR, M. Morphology of and release behavior from porous polyurethane microspheres. Biomaterials. 21, 2073-2079, 2000.

MACHADO, A. C. H. R., Desenvolvimento e avaliação da incorporação e liberação de óleo de açaí em hidrogéis de poli(N-vinil-2-pirrolidona), Dissertação de Mestrado, IPEN, 2010.

ROSEN, M. J. Surfactants and Interfacial Phenomena. Wiley-Interscience, New York, 576p, 2004.

SHAHIDI F. Bailey's industrial oil and fat products: industrial and nonedible products from oils and fats. Wiley. 520p, 2005.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir da Polimerização de Monômeros - Parte I. *Polímeros*. 22, p.96-100 2012.

TIARKS, F.; LANDFESTER, K.; ANTONIETTI, M. One-Step Preparation of Polyurethane Dispersions by Miniemulsion Polyaddition *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*. V. 39, 2520-2524, 2001.

TORINI, L.; ARGILLIER, J. F.; ZYDOWICZ, N. Interfacial Polycondensation Encapsulation in Miniemulsion. *Macromolecules*. 38, 3225-3236, 2005.

VALERIO, A.; ARAUJO, P. H. H.; SAYER, C. Preparation of poly(urethane-urea) nanoparticles containing açai oil by miniemulsion polymerization. *Polímeros*, 2013 (*in press*).

ZANETTI-RAMOS B. G.; FRITZEN-GARCIA M. B.; CRECZYNSKI-PASA T. B.; de OLIVEIRA C. S.; PASA A. A.; SOLDI V.; BORSALI R. Characterization of polymeric particles with electron microscopy, dynamic light scattering, and atomic force microscopy. *Particle Science Technology*. 28, 472-484, 2010.

ZANETTI-RAMOS, B. G.; LEMOS-SENNA, E.; CRAMAIL, H.; CLOUTET, E.; BORSALI, R.; SOLDI, V. Polyurethane nanoparticles from a natural polyol via miniemulsion technique. *Polymer*. 47, 8080-8087, 2006.

ZHANG, Q.; SHI, Y.; ZHAN, X.; CHEN, F. In situ miniemulsion polymerization for waterborne polyurethanes: Kinetics and modeling of interfacial hydrolysis of isocyanate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 393(0): 17-26, 2012.



## CAPITULO IV

# EFEITO DA RADIAÇÃO MICROONDAS NA OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE POLI(UREIA-URETANO) VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO

### 4.1 INTRODUÇÃO

Microondas é um tipo de energia radiante que faz parte do espectro eletromagnético, ou seja, é uma forma de radiação eletromagnética. As microondas são classificadas como radiação não ionizante, com efeito, estritamente térmico, tendo como princípio básico o aquecimento através da vibração molecular. Portanto, o aquecimento por microondas é um processo de aquecimento muito diferente quando comparado ao aquecimento convencional (FORTUNY et al., 2008; COSTA et al., 2009; MARCASUZA et al., 2011; BOGDAL, 2012).

Durante os últimos anos, o uso de reatores microondas comerciais com excelente controle de temperatura e potência aumentou significativamente a confiabilidade das reações de microondas em diferentes áreas da pesquisa (COSTA et al., 2009; XIONG et al., 2010; MELO et al., 2010; MARCASUZA et al., 2011; BOGDAL, 2012, YU e CHEN, 2013). Radiação microondas utilizada como método rápido e eficiente de aquecimento do meio reacional apresenta vantagens significativas sobre os métodos térmicos convencionais. Estudos mostraram que quando comparada com reações utilizando aquecimento convencional, as reações utilizando radiação microondas têm como principal vantagem taxas de reação mais elevadas, levando assim a uma maior conversão dos monômeros em um curto período de tempo (LI et al., 2007; XIONG et al., 2010; YU e CHEN, 2013). Atualmente, a polimerização via miniemulsão utilizando radiação microondas não é amplamente investigada havendo poucos relatos na literatura.

HOLTZE e TAUER, (2007), em pesquisa realizada sobre o uso da radiação microondas na polimerização em miniemulsão via radicais livres observou conversões ultrarrápidas e polímero final com massa molar variável de acordo com a variação da temperatura do forno de polimerização. Em estudos realizados por XIONG et al., (2010) na obtenção do copolímero fluoroacrilato via polimerização radicalar em miniemulsão usando radiação microondas, os autores verificaram que os diâmetros médios das partículas de látex obtido via radiação microondas eram menores e mais monodispersos e apresentaram maior estabilidade quando comparado aos obtidos por meio de aquecimento convencional.

ADLINGTON et al. (2013) investigaram a síntese de oligómeros de metacrilato de metila por polimerização de transferência de cadeia controlado por ATRP (*Atom Transfer Radical Polimerization*) utilizando 2,2'-azobisisobutyronitrile, 2,2'-azo-bis-iobutyronitrila (AIBN) como catalisador mostrou que as reações foram aceleradas consideravelmente com a utilização de aquecimento por microondas. Segundo os autores a aceleração do processo de síntese durante aquecimento por microondas é atribuído ao aquecimento selectivo das espécies de radicais oligoméricas.

A obtenção de poli(ureia-uretano) via polimerização em miniemulsão tem atraído muita atenção nas últimas décadas devido ao seu uso em diferentes áreas como farmacêutica, médica e de cosméticos, principalmente como meio para libertação controlada de fármacos devido às suas excelentes propriedades físicas e de biocompatibilidade (TORINI et al., 2005; CRESPIY et al., 2007; ZANETTI-RAMOS et al., 2009; DING et al., 2011; GAUDIN e SINTES-ZYDOWICZ de 2011; VALERIO et al., 2013).

Com base no que foi apresentado, neste capítulo do trabalho o uso de radiação microondas na polimerização via miniemulsão do diisocianato (IPDI) foi investigada. Os resultados estão voltados principalmente para a comparação entre as técnicas de aquecimento via radiação microondas e aquecimento convencional. Os efeitos cinéticos dos parâmetros de reação, tais como temperatura, potência e tipo de poli-ol, foram investigados uma vez que a literatura não relata trabalhos de polimerização em miniemulsão em etapas conduzidas em reator microondas como os apresentados nesse trabalho.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Materiais

Para a realização das reações de miniemulsão foram utilizados os monômeros, diisocianato de isoforona (IPDI, 98 %, Mw 222 g/mol, Sigma), como polióis poli(etilenoglicol) (PEG), um ácido graxo monoinsaturado contendo dois grupos hidroxila, com massa molar média 380-420 g/mol (PEG 400, Sigma Aldrich) e 950-1050 g/mol (PEG1000, Linfar). 1,6-hexanediol (99 %), glicerol (99 %), óleo de mamona (100 %, Mw 928 g/mol, Linfar), composto rico em cadeias de ácidos graxos constituído majoritariamente por ácido ricinoléico (SHAHIDI, 2005). Como surfactantes, foi utilizado dodecil sulfato de sódio (SDS) adquirido a partir da Sigma-Aldrich. Crodamol, um triglicerídeo saturado utilizado como agente hidrofóbico foi adquirido da Alfa Aesar. Na quantificação de

grupamentos NCO livres ao final das reações os reagentes n-dibutilamina (99 %, Vetec), tolueno (99,5 %, Vetec), propanol (99,5 %, Synth), ácido clorídrico 1N (HCl, Cronoline, P.A) e azul de bromofenol 0.1 % (Lafan) foram utilizados. Todos os reagentes foram utilizados como recebidos sem purificação.

## **4.2.2 Procedimentos experimentais**

### **4.2.2.1 Polimerização por aquecimento convencional**

As nanopartículas de PU foram sintetizadas via polimerização em miniemulsão de acordo com o procedimento descrito a seguir. A fase aquosa (90 % em massa em relação à fase orgânica) foi preparada com 10 % de surfactante SDS em relação à fase orgânica. A fase orgânica foi preparada com 10% de PEG 1000 ou PEG 400 (em relação a monômeros) e a razão molar NCO:OH foi mantida constante em todas as reações em 1,5:1. A fase aquosa foi adicionada lentamente à fase orgânica e mantida sob agitação magnética por 5 min a 40 °C. A miniemulsão foi então preparada pela sonificação da emulsão anterior durante 300 s a uma amplitude de 20 % (Malvern - Hidro 2000MU) utilizando banho de gelo na tentativa de retardar o início da reação. Em seguida a temperatura foi aumentada para 70 °C (salvo menção em contrário) e a reação mantida em reator de vidro encamisado conectado a um banho termostático com circulação de água por 5 horas a baixa pressão (1 atm).

### **4.2.2.2 Polimerização em reator microondas**

As reações de microondas foram realizadas em reator microondas Discover S-Class, CEM localizado no Laboratório Núcleo de Estudos de Sistemas Coloidais – NUESC/UNIT. Para comparar os resultados, a miniemulsão inicial foi obtida utilizando a mesma metodologia descrita acima, para aquecimento convencional. No entanto, após a sonificação a miniemulsão foi colocada em reator microondas utilizando balão de vidro específico para uso em microondas com capacidade de 35 mL. A polimerização se deu pela aplicação de radiação microondas a uma potência de no máximo 50 W, 100 W, 150 W ou 300 W até a temperatura desejada (50 °C a 80 °C) ser alcançada. As reações foram mantidas por 5 horas no recipiente microondas. Para evitar o aquecimento não uniforme durante a polimerização em microondas, o reator foi equipado com uma placa eletromagnética localizada abaixo da cavidade do microondas, que permitiu a agitação das amostras durante as reações. O equipamento faz uso de um sensor infravermelho, sem contato, para medidas de

temperatura. Ao final de cada reação um jato de ar no interior da cavidade do sistema foi utilizado para reduzir instantaneamente a temperatura da miniemulsão final. Após cada procedimento, as amostras foram coletadas e reservadas para caracterização.

Para excluir a influência da diferença da temperatura entre o aquecimento convencional e o aquecimento por microondas, a temperatura de reação foi mantida tão próxima quanto possível em ambos os métodos. As condições experimentais são apresentadas na Tabela 6. Durante as reações foram retiradas amostras em duplicatas em intervalos regulares para caracterização. Ao final de cada reação a conversão do monômero IPDI foi determinada a partir da titulação de volta dos grupamentos NCO livres presentes no PU final com uma solução de n-dibutilamina seguindo metodologia descrita pela ASTM D-2572 para determinação dos grupamentos NCO livres.

**Tabela 6** - Condições experimentais usadas na obtenção de PU via polimerização em miniemulsão utilizando radiação microondas e aquecimento convencional.

<b>Fase monomérica (NCO:OH)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Potência (W)</b>
IPDI:1,6-hexanodiol	70	0
IPDI:óleo de mamona <sup>a</sup>	70	0
IPDI: óleo de mamona <sup>b</sup>	70	0
IPDI:PEG400	70	0
IPDI:Glicerol	70	0
IPDI:1,6-hexanodiol	70	150
IPDI: óleo de mamona <sup>a</sup>	70	150
IPDI: óleo de mamona <sup>b</sup>	70	150
IPDI:PEG400	70	150
IPDI:Glicerol	70	150
IPDI: óleo de mamona <sup>b</sup>	50	150
IPDI: óleo de mamona <sup>b</sup>	60	150
IPDI: óleo de mamona <sup>b</sup>	80	150
IPDI: óleo de mamona <sup>b</sup>	70	50
IPDI: óleo de mamona <sup>b</sup>	70	100
IPDI: óleo de mamona <sup>b</sup>	70	300

<sup>a</sup> 10 % de PEG 1000 em relação aos monômeros

<sup>b</sup> 10 % de PEG 400 em relação aos monômeros

### 4.2.3 Caracterização do polímero

Além da titulação para determinação da redução dos grupamentos NCO, os produtos formados na reação foram verificados por

espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), em modo de refletância total atenuada (ATR). A banda de absorção com localização do pico em  $2272\text{ cm}^{-1}$ , devido a  $\text{N}=\text{C}=\text{O}$  dos grupos isocianato, foi definida para identificação do IPDI. Para a identificação dos produtos de reação presentes no polímero final à banda de absorção localizada entre  $1680\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo  $\text{N-H}$  e de ureia e a banda de absorção entre  $1740\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ , atribuída a vibração do grupamento  $\text{C}=\text{O}$  do uretano foram avaliadas.

O diâmetro médio das nanopartículas de PU foi avaliado por dispersão dinâmica de luz (DLS, Zetasizer Nano S, de Malvern). As amostras foram preparadas pela diluição do latex final (1:10) em água desionizada, as medidas foram tomadas em duplicata, a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

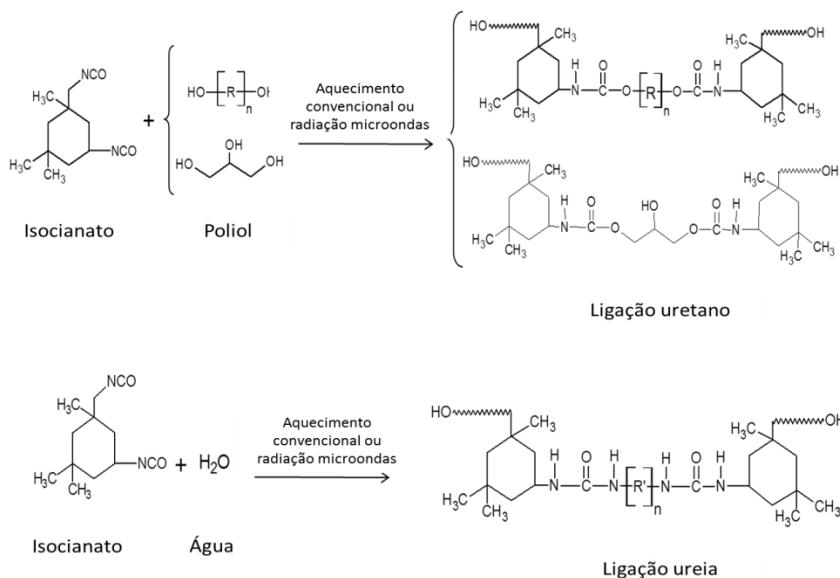
Para comparar o efeito do tipo de aquecimento na hidrofobicidade da superfície dos filmes de PU, foram feitas medidas de ângulo de contacto com água usando o método da gota séssil. Para as medidas de ângulo de contato uma gota de água (cerca de  $10\text{ }\mu\text{L}$ ) foi gotejada gentilmente sobre a superfície seca de cada filme de PU. O ângulo de contato da água foi detectado, à temperatura ambiente, por meio de uma câmara ligada a um software de análise de imagem usando um tensiómetro Ramé-Hart (Ramé-Hart, 250 Padrão G/T). Os filmes de PU foram obtidos após secagem de 12 horas do latex final em estufa com circulação forçada de ar a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

O teor de polímero insolúvel das amostras de PU foi avaliado utilizando o método de extração com solvente de acordo com método descrito na ASTM D-2765.  $2\text{ g}$  de amostra (massa inicial) submetida a refluxo com tolueno em um soxlet durante 24 h. A amostra insolúvel remanescente foi seca em estufa com circulação forçada de ar a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  até massa constante. O teor de polímero insolúvel foi calculado usando a equação (1):

$$\text{Teor de polímero insolúvel} = \frac{\text{massa final}}{\text{massa inicial}} \times 100 \quad (1)$$

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

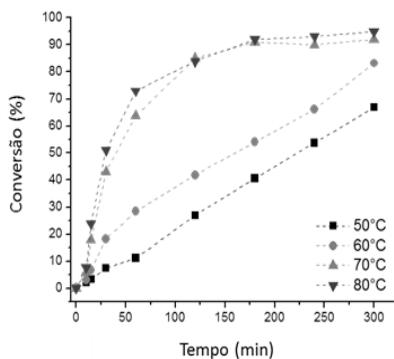
Para investigar os efeitos do tipo de aquecimento na síntese de poliuretana via polimerização em miniemulsão, realizou-se a síntese de nanopartículas de PU utilizando aquecimento em microondas e aquecimento convencional. O esquema de reações proposto para esta fase de polimerização é mostrado na Figura 11.



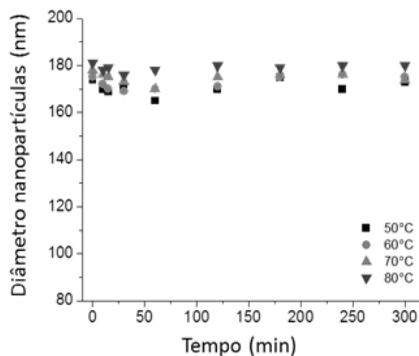
**Figura 11** - Diagrama esquemático proposto para o mecanismo de formação de poli(ureia-uretano) via polimerização em miniemulsão usando radiação microondas e aquecimento convencional. Onde R representa a cadeia saturada ou insaturada do poliols presente na reação e R' representa o de 1,3,3 trimetil ciclohexano (produto da reação entre a amina, formada a partir da reação de um grupo isociano com a água, com outro grupo isociano).

#### 4.3.1 Comparação entre polimerização em microondas e aquecimento convencional: Influência da temperatura na polimerização em miniemulsão

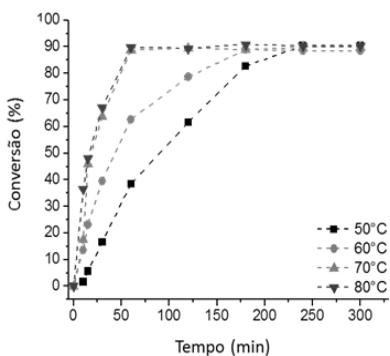
Visando verificar a influência da temperatura nas reações de polimerização em miniemulsão, foram realizadas reações variando a temperatura na faixa de 50 °C até 80 °C usando aquecimento convencional e microondas com potência de 150 W. Os resultados em termos de conversão e tamanho de partículas são apresentados na Figura 12.



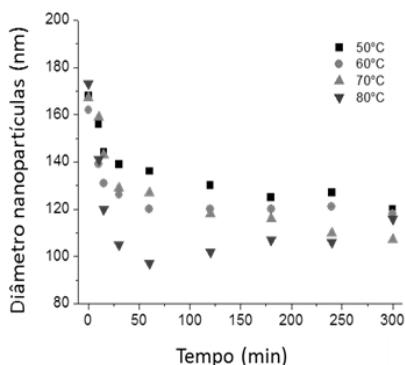
(a)



(b)



(c)



(d)

**Figura 12** - Evolução da conversão (a e c) e diâmetro das nanopartículas (b e d) da PU durante polimerização em miniemulsão com aquecimento convencional (a e b) e radiação microondas (c e d) sintetizadas utilizando óleo de mamona/PEG400 como polioli.

Em ambos os casos, como esperado, a taxa de reação aumentou quando a temperatura da reação foi aumentada de 50°C para 60 °C e de 60 °C para 70 °C. No entanto, um aumento adicional de temperatura de 70 °C e 80 °C, para ambos os sistemas, resultou apenas em um ligeiro aumento na taxa de reação. Isto é atribuído ao aumento das reações com os grupos OH da água, com formação de ureia, o que afeta a estequiometria da reação e, assim, diminui ligeiramente a velocidade da reação, contrabalançando o efeito da temperatura mais elevada, como observado por VALERIO et al. (2013) para reações com aquecimento convencional.

Por outro lado, o efeito da energia de microondas na evolução da conversão é bastante perceptível para todas as temperaturas avaliadas em

toda gama de conversão. Pode-se observar que o aquecimento por microondas aumentou as taxas iniciais de reação, resultando em uma reação mais rápida quando comparado com as taxas de reações para as reações com aquecimento convencional. De acordo com os valores apresentados na Tabela 7, às taxas de reação para as reações com aquecimento convencional correspondem a 29 %, 45 %, 73 % e 69 % dos valores das taxas de reação utilizando radiação microondas, nas temperaturas de 50, 60, 70 e 80 °C, respectivamente, para os primeiros 60 minutos de reação.

**Tabela 7** - Taxa de reação para reações em miniemulsão utilizando aquecimento convencional e radiação microondas a diferentes temperaturas.

Tempo (min)	Taxa de reação (%NCO/min) aquecimento convencional				Taxa de reação (%NCO/min) radiação microondas			
	50°C	60°C	70°C	80°C	50°C	60°C	70°C	80°C
60	0,187	0,475	1,083	1,032	0,640	1,045	1,477	1,496
120	0,225	0,349	0,629	0,633	0,513	0,656	0,746	0,745
240	0,224	0,275	0,383	0,376	0,377	0,369	0,374	0,376
300	0,223	0,277	0,306	0,301	0,301	0,295	0,493	0,505

Conforme relatado por COSTA et al. (2009), para polimerização em emulsão via radical livre em reator microondas, a radiação microondas é preferencialmente absorvida pela água, devido suas características polares. Assim, a cinética da fase aquosa é afetada principalmente pela radiação microondas resultando em efeitos microondas específicos para cada sistema de monômeros. No caso da polimerização em miniemulsão apresentada neste trabalho, a radiação microondas pode acelerar a rotação das moléculas de monômero que contém os grupos funcionais (NCO e OH), aumentando a velocidade da reação. Além disso, o aquecimento convencional por convecção térmica através da parede do reator pode apresentar gradiente de temperatura no sistema de reação, assim, o efeito da falta de homogeneidade da temperatura pode levar a uma redução na velocidade da reação.

O uso de radiação microondas, por outro lado, leva a um rápido aumento da temperatura diretamente relacionada ao movimento de rotação das moléculas possibilitando reações mais homogênea e rápida entre os grupos funcionais. Uma vez que a taxa de aquecimento e a eficiência do aquecimento dependem fortemente das propriedades dielétricas do

reagente ou solvente, e em uma polimerização em emulsão ou miniemulsão 50 a 80 % em massa do meio de reação é composta por água, a taxa de reação pode ser favoravelmente afetada pela radiação microondas favorecendo o aumento da taxa de reação.

Foi observada também a redução do diâmetro das nanopartículas com o tempo de reação para as reações em microondas para todas as temperaturas estudadas, comportamento esse que não foi observado nas reações utilizando aquecimento convencional como apresentado nas Figuras 12b e 12d. O efeito da redução do diâmetro das nanopartículas de PU sintetizadas a partir dos poliois óleo de mamona e PEG400 podem estar relacionados com o aumento da solubilidade dos monômeros na fase aquosa (e da água nas partículas), aumentado à formação de ureia e a liberação de CO<sub>2</sub> que por sua vez estando presente nas nanopartículas ao evaporar provoca a redução do diâmetro das nanopartículas. Além da possível saída dos monômeros das partículas com o aumento do aquecimento devido ao aumento da mobilidade das cadeias.

#### **4.3.2 Comparação entre polimerização em microondas e aquecimento convencional: Influência do tipo de poliols na obtenção de PU via polimerização em miniemulsão**

A capacidade de uma amostra específica de converter calor em energia electromagnética com uma frequência e temperatura específica depende das propriedades dielétricas e os tempos de relaxação da mistura. Como consequência, a utilização de energia microondas proporciona um aquecimento seletivo dos materiais e a formação de "pontos quentes" dentro da amostra, que afetam favoravelmente as taxas de reação, os chamados efeitos térmicos (FORTUNY et al., 2008; de MELO et al., 2010). Para estudar o efeito da irradiação de microondas sobre as características do PU, diferentes poliois foram avaliados e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 8.

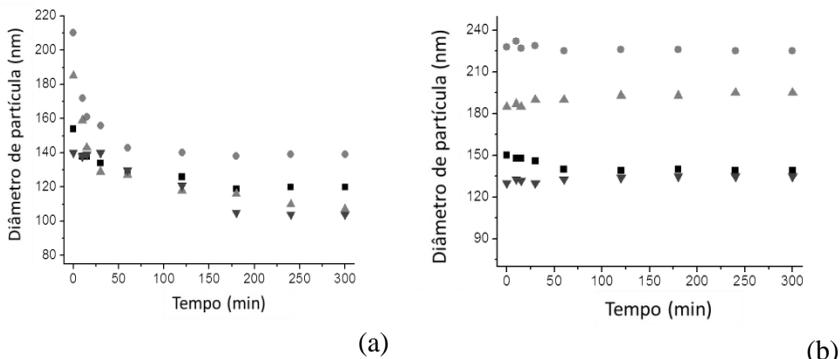
**Tabela 8** - Efeito da radiação microondas em comparação ao aquecimento convencional na síntese de PU usando diferentes polióis.

Poliol	Radiação microondas			Aquecimento convencional	
	Dp (nm)	PdI	Ângulo de contato (°)	Dp (nm)	PdI
1,6-hexanodiol	120±2,05	0,115	29	139±1,4	0,181
Óleo de mamona <sup>a</sup>	139±1,48	0,146	63	225±2,8	0,221
Óleo de mamona <sup>b</sup>	107±1,96	0,121	48	197±2,6	0,240
Glicerol	104±2,58	0,067	39	135±1,93	0,071

<sup>a</sup> 10% de PEG 1000 em relação aos monômeros

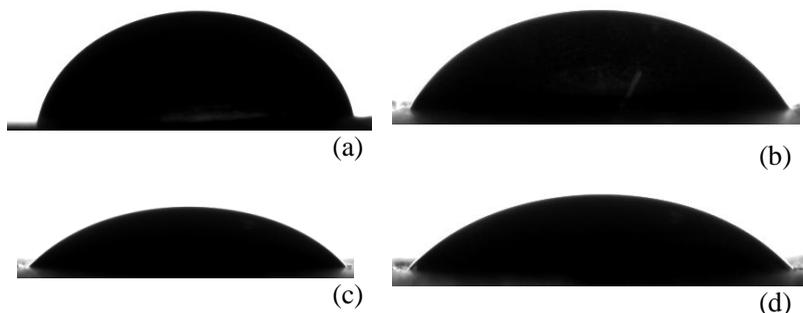
<sup>b</sup> 10% de PEG 400 em relação aos monômeros

Uma vez que o tamanho inicial das gotas independe do método de aquecimento utilizado, mas também dependem do tipo de poliol, comparando o tamanho das nanopartículas de PU preparadas por estes dois métodos, utilizando a mesma composição em termos de fase orgânica e fase aquosa foi possível observar que o aquecimento via radiação microondas resultou em nanopartículas de PU com diâmetro de partículas menores e com uma distribuição mais estreita quando comparadas com as nanopartículas de PU preparadas utilizando aquecimento convencional (Tabela 8 e Figura 13a e 13b). Assim como mostrado anteriormente, na utilização de diferentes polióis também foi observada a redução do diâmetro das nanopartículas de PU obtidas em reator microondas, por outro lado para as mesmas condições reacionais, com aquecimento convencional os diâmetros das nanopartículas de PU mantiveram-se contante até o final do tempo de reação. Novamente para esses resultados a redução do diâmetro das nanopartículas de PU quando em reator microondas pode estar associada a maior formação de ureia logo a liberação do CO<sub>2</sub> presente nas nanopartículas pode auxiliar a redução das nanopartículas de PU, assim como a saída dos monômeros das nanopartículas.



**Figura 13** - Evolução do tamanho das nanopartículas de PU durante polimerização em miniemulsão a temperatura constante em (a) reator microondas e (b) aquecimento convencional com diferentes poliois: 1,6-hexanodiol (■), óleo de mamona/PEG1000 (●), óleo de mamona/PEG400 (▲), e glicerol (▼).

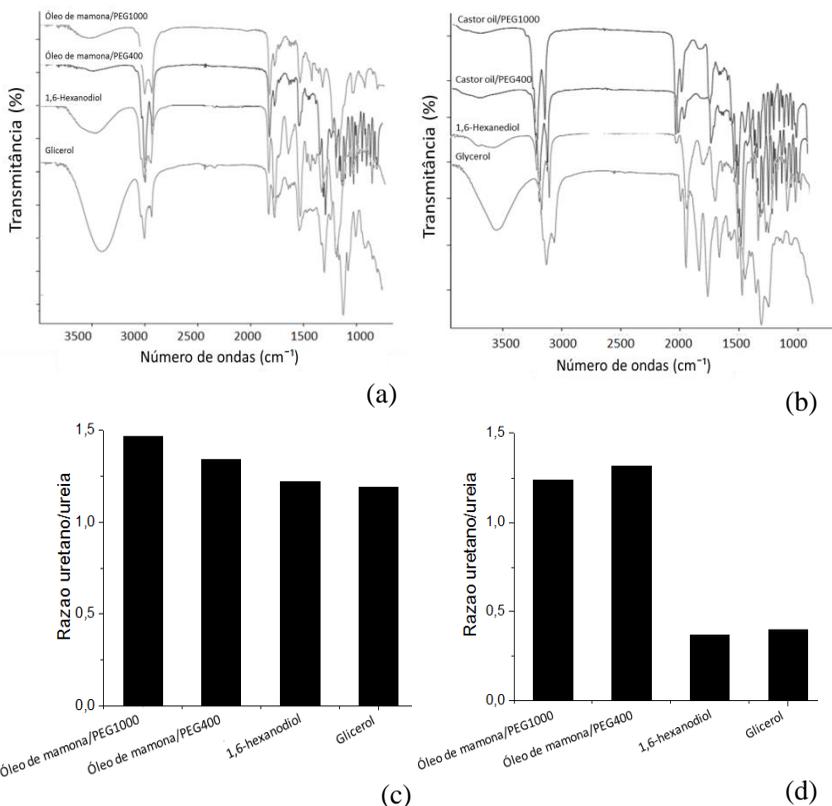
Medidas de ângulo de contato podem ser usadas na determinação da polaridade da superfície dos materiais. Desta forma, neste trabalho medidas de ângulo de contato com água foram utilizadas para determinar se o tipo de polioliol tem influência na hidrofobicidade dos filmes de PU obtidos com aquecimento em reator microondas. A partir dos resultados apresentados na Tabela 8 é possível observar que os valores de ângulo de contato aumentam com o aumento da cadeia do polioliol, estes resultados indicam que o carácter hidrófobico dos filmes de PU diminuem à medida que aumenta a polaridade do polioliol. A Figura 14 mostra que para os filmes de PU obtido com óleo de mamona/PEG1000 e óleo de mamona/PEG400, com a mesma composição molar, mas diferente tamanho de cadeia apresentou redução do ângulo de contacto de  $63^\circ$  para  $48^\circ$ , respectivamente para óleo de mamona/PEG1000 e óleo de mamona/PEG400. A diferença no comprimento da cadeia de PEG mostrou ter influência no valor de ângulo de contato, alterando a polaridade dos filmes PU reduzindo sua hidrofobicidade. O mesmo comportamento foi observado nos experimentos utilizando glicerol ( $39^\circ$ ) e 1,6-hexanodiol ( $29^\circ$ ), estes resultados indicaram que, quando a polaridade do monômero aumenta a hidrofobicidade do polímero final diminuiu.



**Figura 14** - Medias de ângulo de contato para filmes de PU obtidos com diferentes polióis utilizando radiação microondas: (a) Óleo de mamona/PEG1000, (b) óleo de mamona/PEG400, (c) 1,6-hexanodiol e (d) glicerol.

Para verificar a composição das amostras de PU em termos de formação de ureia e uretano, as amostras foram analisadas por FTIR. Na Figura 15a e 15b são apresentados os espectros de FTIR dos filmes de PU obtidos via polimerização com aquecimento convencional e via radiação microondas. As bandas de absorção de ureia e uretano foram observadas na faixa entre  $1680-1650$  e  $1740-1700\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente e a razão entre as áreas foram calculadas a partir desses picos (Figura 15c e 15d).

Comparando as bandas de absorção nos espectros de FTIR para as amostras usando glicerol, óleo de mamona/PEG400 e óleo de mamona/PEG1000 como poliól é possível observar um aumento gradual na intensidade do grupamento  $C=O$  característico da uretana com o aumento da massa molar do poliól em relação ao pico de absorção da ureia (N-H). Assim, com a alteração do tipo de poliól, que afeta a relação uretano/ureia, é possível modificar a hidrofobicidade do polímero PU, sendo possível a formação de diferentes teores de uretano e ureia. Para os resultados obtidos neste trabalho, quando o aquecimento convencional foi utilizado observou-se de maneira geral uma maior formação de uretano no polímero final, por outro lado, utilizando radiação microondas foi possível aumentar o teor de ureia no polímero final.



**Figura 15** - Caracterização por FTIR do PU sintetizado com diferentes poliois via polimerização em miniemulsão utilizando (a) aquecimento convencional e (b) reator microondas e razão uretano/ureia calculadas a partir das áreas de pico determinado por FTIR para reações com (c) aquecimento convencional e (d) reator microondas.

A maior formação de ureia foi observada quando 1,6-hexanodiol e glicerol foram utilizados como poliols usando radiação microondas como método de polimerização, neste caso, a razão uretano/ureia foi de 0,35 e 0,43, respectivamente. Por outro lado, usando aquecimento convencional a razão uretano/ureia observada foi de 1,25 e 1,18, respectivamente para 1,6-hexanodiol e glicerol (Figura 15). Os resultados apontam para um aumento na formação de ureia, indicando o aumento da solubilidade desses monômeros em água durante reação em microondas, fazendo com que a reação entre os grupamentos NCO e OH da água ocorram em maiores proporções do que as reações entre os grupamentos NCO e OH dos poliois.

Quando óleo de mamona/PEG400 e óleo de mamona/PEG1000 foram utilizados como polioli uma maior formação de uretano foi observada tanto para reações com aquecimento convencional quanto para as reações em reator microondas. Os resultados sugerem que a utilização da radiação microondas aumentou a mobilidade das cadeias de óleo de mamona possibilitando assim a reação entre os grupamentos NCO e OH dos polióis aumentando a formação de ligações uretano. Comparando os resultados entre os dois métodos de aquecimento utilizando mamona/PEG1000 e óleo de mamona/PEG400 a razão uretano/ureia encontrada para as reações em microondas foi 1,26 e 1,31 e 1,5 e 1,34 para reações com aquecimento convencional, como mostrado nas Figuras 15c e 15d.

**Tabela 9** – Avaliação do teor de polímero insolúvel determinado por extração em soxhlet para PU obtidos com diferentes polióis com aquecimento convencional e radiação microondas.

Poliol	Radiação microondas	Aquecimento convencional		
	Polímero insolúvel (%)	Polímero insolúvel (%)	Mw (g/mol)	Mn
Óleo de mamona <sup>a</sup>	51,67	0,74	16523	8552
Óleo de mamona <sup>b</sup>	57,77	0,97	13518	3966
1,6-hexanodiol	42,02	0,68	9067	5810
Glicerol	73,11	1,02	5433	2054

<sup>a</sup> 10% de PEG 1000 em relação aos monômeros

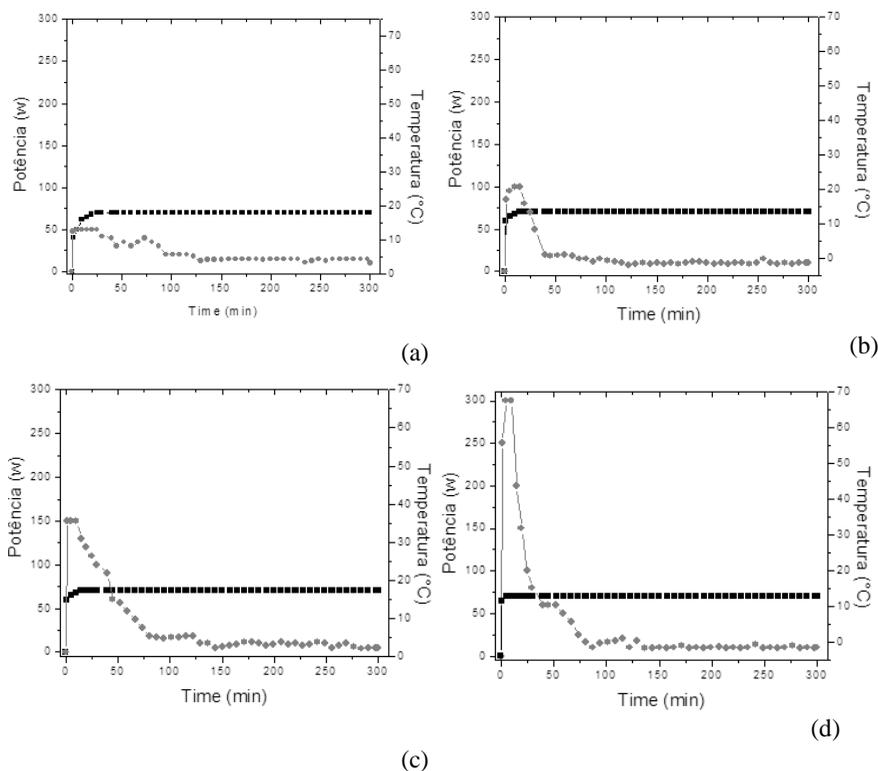
<sup>b</sup> 10% de PEG 400 em relação aos monômeros

O teor de polímero insolúvel foi determinado através de metodologia descrita anteriormente utilizando extrator soxhlet. Os altos valores do teor de polímero insolúvel nas reações em reator microondas quando foram utilizados os monômeros, glicerol (73 %), óleo de mamona/PEG400 (57 %) e óleo de mamona/PEG400 (51 %) comparados com as mesmas reações conduzidas com aquecimento convencional (Tabela 9) podem ser atribuídos ao efeito da radiação microondas na mobilidade das moléculas, afetando a reatividade do terceiro grupamento hidroxila, levando à formação de um polímero com elevado teor de reticulação. Entretanto, quando 1,6-hexanodiol foi utilizado como monômero nas reações com irradiação microondas um teor elevado de polímero insolúvel (42 %) foi encontrado, apesar de este polioli linear apresentar apenas duas hidroxilas em sua estrutura molecular. Nesta reação a presença de um alto teor de polímero insolúvel quando comparado com a reação conduzida com aquecimento convencional pode ser explicada pelo

solvente escolhido (tolueno) não ser adequado para a solubilização da poliureia e o polímero sintetizado apresentarem alto teor de ligações ureia conforme observado na Figura 15d.

### 4.3.3 Efeito da potência máxima na polimerização em microondas

O método dinâmico de operação do microondas é definido pelo ajuste de um único parâmetro cinético. Sendo assim estudou-se a influência da variação da potência máxima na faixa entre 50 W a 300 W, mantendo a temperatura constante em 70 °C (Figura 16) para reações utilizando óleo de mamona/PEG400 como polioli. Os resultados são apresentados na Tabela 10.



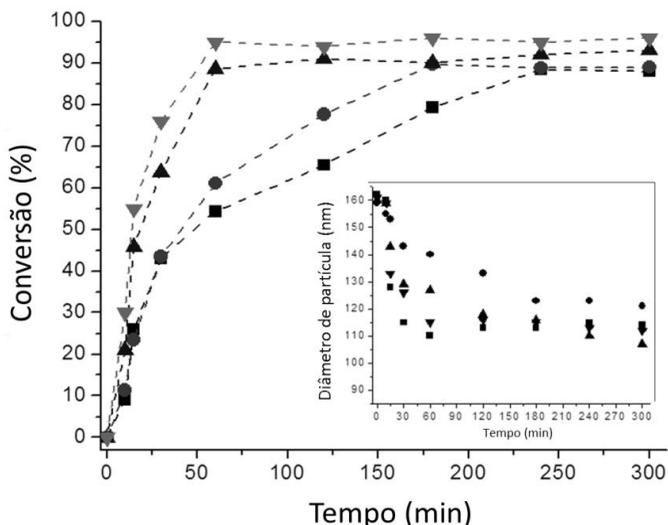
**Figura 16** - Evolução da temperatura (■) e potência (●) durante reações de obtenção de PU via polimerização em miniemulsão em microondas: (a) 70 °C e 50 W, (b) 70 °C e 100 W, 70 °C e 150 W e 70 °C e 300 W.

**Tabela 10** - Condições experimentais e resultado da polimerização em microondas utilizando diferentes potências a temperatura constante (70°) na obtenção de PU.

Potência (W)	Dp (nm)	PdI	Taxa de reação (%NCO/min)
50	115±3,15	0,126	0,717
100	121±2,87	0,129	0,724
150	107±2,56	0,131	1,064
300	112±4,09	0,127	1,267

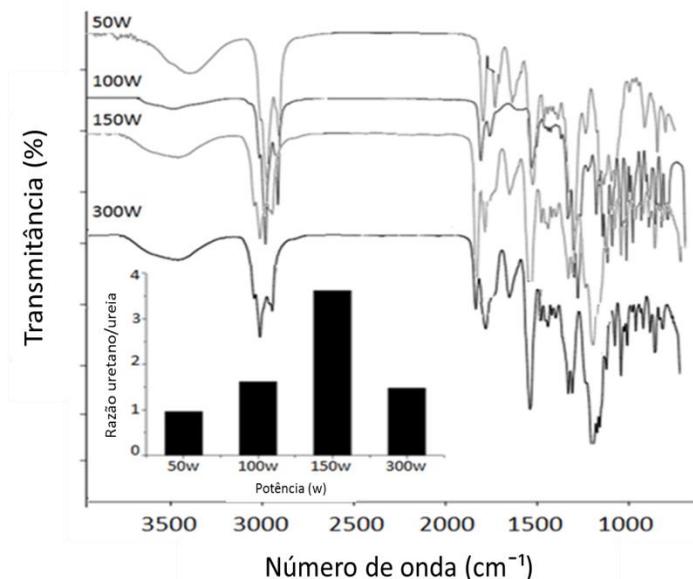
Os diâmetros médios das nanopartículas de PU obtidas com a variação da potência apresentaram-se muito parecidos. Estes resultados indicam que o aumento da potência da radiação microondas não apresentou um efeito relevante no tamanho médio e o índice de polidispersão das nanopartículas de PU, como mostrado na Tabela 10 e Figura 17 (*figura inferior à direita*). Assim, sob as condições avaliadas, a potência da radiação microondas não apresentou influência na estabilidade da miniemulsão em termos de mecanismos de degradação, como a coalescência e maturação de Ostwald (degradação por difusão). Por outro lado, é possível observar que a variação da potência mostrou-se como uma variável de grande influência na taxa de reação, como mostrado na Figura 17. Pode-se notar que nas reações em que houve o aumento da potência à temperatura constante foi possível aumentar as taxas de reação, resultando em polimerizações mais rápidas.

Pela observação dos resultados é possível afirmar que a potência é um parâmetro cinético importante a ser controlado durante as reações de polimerização em miniemulsão na obtenção de PU em reator microondas. A radiação microondas atua no aumento da mobilidade das moléculas fazendo com que os grupamentos funcionais movam-se livremente ocasionando um aumento na velocidade de reação. Como apresentado na Tabela 10 e Figura 17, quando a potência foi aumentada de 50 W para 300 W a velocidade da reação nos primeiros 60 minutos apresentou aumento de 0,717 para 1,267. Enquanto utilizando 50 W de potência foram necessários 240 min a 70 °C para alcançar 85 % de conversão, utilizando 300 W a conversão alcançada foi de 97 % em 60 min de reação. Os resultados apresentados neste trabalho para reações de polimerização em etapas estão de acordo com os já relatados para polimerizações via radical livre (COSTA et al., 2009; XIONG et al., 2010; MARCASUZA et al., 2011; BOGDAL, 2012).



**Figura 17** - Evolução da conversão durante a polimerização em miniemulsão em reator microondas e evolução do tamanho das partículas (*inserção inferior à direita*) a temperatura constante 70 °C e 50 W (■), 100 W (●), 150 W (▲), and 300 W (▼) como potência máxima.

A partir dos espectros FTIR dos polímeros de PU foi possível obter a razão entre as áreas de uretano/ureia utilizando os picos localizados em 1680-1650  $\text{cm}^{-1}$  para a ureia e 1740-1700  $\text{cm}^{-1}$  para o uretano. Os resultados são ilustrados na Figura 18. Nas figuras, pode-se verificar que a formação de uretano aparece em um nível crescente com o aumento da potência na faixa entre 50 W e 150 W, por outro lado quando a potência foi aumentada de 150 W para 300 W a razão uretano/ureia reduziu devido ao aumento na formação de ureia. O comportamento pode ser justificado pelo aumento da absorção da radiação microondas pelas moléculas de água aumentando assim a reação entre os grupamentos NCO livre com os grupamentos OH da água ocasionando um aumento na produção de uréia.



**Figura 18** - Razão Uretano/ureia (*inserção inferior à esquerda*) calculado usando áreas de pico do FTIR para as amostras de PU sintetizadas via polimerização em miniemulsão em reator microondas à temperatura constante variando a intensidade da potência aplicada.

#### 4.4 CONCLUSÕES

A utilização de radiação microondas acelerou as reações de polimerização na obtenção de poliuretano quando comparado com reações utilizando aquecimento convencional que apresentaram velocidades de reação inferiores. Este fato foi atribuído à diferente solubilidade na fase aquosa e os parâmetros de dielétricos dos monômeros. Como consequência, os efeitos da radiação microondas são específicos para cada sistema. Um incremento significativo da taxa de reação foi observado nas reações com o aumento da potência máxima da radiação microondas. Na polimerização em etapas conduzida com até 300 W de potência máxima foi possível alcançar 97 % de conversão em 60 minutos, enquanto que para a reação com potência máxima de 50 W foram necessárias cerca de 5 horas com aquecimento via microondas para alcançar a mesma faixa de conversão. Os resultados obtidos são relacionados com a propriedade de aquecimento seletivo da radiação microondas aumentando assim a interação entre os monômeros. A partir dos resultados apresentados neste trabalho é possível confirmar a vantagem da utilização de microondas também na cinética do

processo de polimerização em etapas, quando comparado ao aquecimento convencional.

#### **4.5 BIBLIOGRAFIA**

ADLINGTON, K, G. JAOUAD, J. J.; HARFI, E.; DIMITRAKIS, G.; SMITH, A.; KINGMAN, S. W.; ROBINSON, J. P.; IRVINE, D. J. Mechanistic Investigation into the Accelerated Synthesis of Methacrylate Oligomers via the Application of Catalytic Chain Transfer Polymerization and Selective Microwave Heating. *Macromolecules*. 46 (10), 3922-3930, 2013.

AL-GHAMDI, G. H.; SUDOL, E. D; DIMONIE, V. D.; EL-AASSER, M. S. Encapsulation of titanium dioxide in styrene/*n*-butyl acrylate copolymer by miniemulsion polymerization. *Journal of applied polymer science*. 101, p. 3479-3486, 2006.

ANTONIETTI, M; LANDFESTER, K. Polyreactions in miniemulsions. *Progress in Polymer Science*.27, p. 689–757, 2002.

ASTM D-2572, Standard Test Method for isocyanate Groups in Urethane Materials or Prepolymers, (2003).

BARRÉRE, M.. LANDFESTER, K. High Molecular Weight Polyurethane and Polymer Hybrid Particles in Aqueous Miniemulsion. *Macromolecules*. 36, p. 5119-5125, 2003.

BOGDAL, D. Microwave-Assisted Polymerization. *Polymer Science: A Comprehensive Reference*. p. 981–1027, 2012.

COSTA, C.; SANTOS, A. F.; FORTUNY, M.; ARAUJO, P. H.H.; SAYER, C. Kinetic advantages of using microwaves in the emulsion polymerization of MMA. *Materials Science and Engineering C*, 29, 415–419, 2009.

COSTA, C.; SANTOS, V. H. S.; ARAUJO, P. H. H.; SAYER, C. SANTOS, A. F.; DARIVA, C.; FORTUNY, M. Rapid decomposition of a cationic azo-initiator under microwave irradiation. *Journal of Applied Polymer Science*. v. 118, 1421–1429, 2010.

COSTA, C.; SANTOS, V. H. S.; SAYER, C.; ARAUJO, P. H. H.; SANTOS, A. F.; FORTUNY, M. Microwave effects due to anionic or cationic initiators in emulsion polymerization reactions. *Macromolecular Symposium*. v. 302, 161–168, 2011.

CRESPY, D.; STARK, M.; HOFFMANN-RICHTER, C.; ZIENER, U.; LANDFESTER, K. Polymeric Nanoreactors for Hydrophilic Reagents Synthesized by Interfacial Polycondensation on Miniemulsion Droplets. *Macromolecules*, 40, p.3122 2007.

DING, M.; HE, X.; WANG, Z.; LI, J.; TAN, H.; DENG, H.; FU, Q.; GUC, Q. Cellular uptake of polyurethane nanocarriers mediated by gemini quaternary ammonium. *Biomaterials* 32(35): 9515-9524, 2011.

FORTUNY, M.; RAMOS, A. L. D.; DARIVA, C.; EGUES, S. M. S.; SANTOS, A. F.; NELE, M.; COUTINHO, R. C. C. Principais aplicacoes das microondas na producao e refino de petroleo. *Quim. Nova*. 31, p.1553, 2008.

GAUDIN, F.; SINTES-ZYDOWICZ, N. Poly(urethane–urea) nanocapsules prepared by interfacial step polymerization in miniemulsion. The droplet size: A key-factor for the molecular and thermal characteristics of the polymeric membrane of the nanocapsules?. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*. v, 384, 698–712, 2011.

GAUDIN, F.; SINTES-ZYDOWICZ, N. Core-shell biocompatible polyurethane nanocapsules obtained by interfacial step polymerisation in miniemulsion. *Colloids and surfaces. A, Physicochemical and engineering aspects* 331(1-2): 133, 2008.

HOLTZE, C.; TAUER, K. Surviving Radicals: Promises of a Microwave Effect on Miniemulsion Polymerization for Technical Processes. *Macromolecular Rapid Communications*. 28: 428–436, 2007.

KIM, S-H.; LEE, S. Y.; YI, G-R.; PINE, D. J.; YANG, S-M. Microwave-assisted self-organization of colloidal particles in confining aqueous droplets. *Journal of the American Chemical Society*. 128, p. 10897-10904, 2006.

LI, J.; ZHU, X.; ZHU, J.; CHENG, Z. Microwave-assisted nitroxide-mediated miniemulsion polymerization of styrene. *Radiation Physics and Chemistry*. 76, p. 23-26, 2007.

MARCASUZA, P.; REYNAUD, S.; GRASSL, B.; PREUD'HOMME, H.; DESBRIÈRES, J.; TRCHOVÀ, M.; DONARD, O. F. X. Microwave synthesis: An alternative approach to synthesize conducting end-capped polymers. *Polymer*, 52, p. 33. 2011.

MELO, C. A. R. J.; ALBUQUERQUE, C. R.; CARNEIRO, J. S. A.; DARIVA, C.; FORTUNY, M.; SANTOS, A. F.; EGUES, S. M. S.; RAMOS, A. L. D. Solid-Acid-Catalyzed Esterification of Oleic Acid Assisted by Microwave Heating. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 49 (23), p.12135-12139, 2010.

SALEMA, A. A.; F. N. ANI. Microwave induced pyrolysis of oil palm biomass. *Bioresource Technology* 102, p. 3388-3395, 2011.

TIARKS, F.; LANDFESTER, K. One-step preparation of polyurethane dispersions by miniemulsion polyaddition. *Journal of Polymer Science A: Polymer Chemistry*. 39, 2520-2524, 2001.

TORINI, L.; ARGILLIER, J. F. AND ZYDOWICZ, N. Interfacial Polycondensation Encapsulation in Miniemulsion. *Macromolecules*. v.38, p. 3225-3236, 2005.

VALERIO, A.; ARAUJO, P. H. H.; SAYER, C. Preparation of poly(urethane-urea) nanoparticles containing açai oil by miniemulsion polymerization. *Polímeros*, 2013 (*in press*).

VERMETTE, P.; GRIESSER, H. J.; LAROCHE, G.; GUIDOIN, R. Biomedical applications of polyurethanes. *Landes Bioscience*, p.273, 2001.

ZANETTI-RAMOS, B. G.; LEMOS-SENNA, E.; CRAMAIL H; CLOUTET, E; BORSALI, R.; SOLDI, V. The role of surfactant in the miniemulsion polymerization of biodegradable polyurethane nanoparticles. *Materials Science and Engineering C*. v. 28, 526– 531, 2008.

ZHANG, Q.; SHI, Y.; ZHAN, X.; CHEN, F. In situ miniemulsion polymerization for waterborne polyurethanes: Kinetics and modeling of interfacial hydrolysis of isocyanate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 393(0): 17-26, 2012.

XIONG, S.; GUO, X.; LI, L.; WU, S.; CHU, P. K.; XU, Z. Preparation and characterization of fluorinated acrylate copolymer latexes by miniemulsion polymerization under microwave irradiation. *Journal of Fluorine Chemistry*. 131, 417–425, 2010.

YU, Y.-Y.; P.-K., Chen. Nanocomposites of polymer and inorganic nanoparticles prepared by focused microwave polymerization for optical thin films applications. *Thin Solid Films*. *In press*, 2013.

## CAPITULO V

### SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PEG-POLI(UREIA-URETANO)-PCL VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO

#### 5.1 INTRODUCAO

Atualmente, existe um grande interesse no desenvolvimento de polímeros biodegradáveis para uma variedade de aplicações biomédicas, principalmente materiais bioestáveis usados como dispositivos para estar no corpo durante longos períodos de tempo (FERNANDEZ et al., 2006; DIAS et al., 2010). A liberação eficaz de um determinado fármaco é um fator chave no desenvolvimento de sistemas em nanoescala para uma liberação controlada. No entanto, a rápida captação celular (*uptake*) com toxicidade reduzida vem a ser um grande desafio no estudo da aplicação de nanopartículas como carreadores de fármaco de forma eficiente e segura (WANG et al., 2010; DING et al., 2011; MORRAL-RUÍZ et al., 2012).

O desenvolvimento de poliuretanos biodegradáveis tem atraído muita atenção nas últimas décadas devido às suas excelentes propriedades físicas e de biocompatibilidade (da SILVA et al., 2010; XU et al., 2010; DING et al., 2011, YU et al., 2011). Seu potencial de uso como nanopartículas para a liberação controlada esta sendo discutido em uma variedade de aplicações farmacêuticas e cosméticas (GAUDIN e SINTES-ZYDOWICZ, 2008; CRESPIY e LANDFESTER, 2010). A química altamente variável das PU pode ser explorada para gerar polímeros com propriedades que variam de elastômeros muito macios até plásticos muito rígidos (FERNANDEZ et al., 2006).

A utilização de diisocianato de isoforona (IPDI), na síntese de PU é interessante uma vez que não deve reagir de forma significativa com a água que compõe a fase contínua da miniemulsão (TORINI et al., 2005). Poli(etilenoglicol) (PEG) foi utilizado no intuito de ancorar a casca polimérica das nanopartículas de PU cadeias poliméricas hidrofílicas. Cadeias de PEG ligadas a uma superfície polimérica conferem às nanopartículas uma maior interação quando expostas em um meio aquoso (KATAOKA et al., 1993; OTSUKA et al., 2003; MORRAL-RUÍZ et al., 2012.). Esta estratégia para construção de camadas de PEG aplicadas a nanopartículas vem atraindo crescente interesse na área médica, farmacêutica e biológica, devido às suas propriedades únicas (HUANG et al., 2006; OTSUKA et al., 2003; YONCHEVA et al., 2005). A síntese de PU baseado em poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) tem atraído um crescente interesse de pesquisadores, pois é um monômero frequentemente utilizado

na obtenção de segmentos flexíveis em poliuretanos degradáveis, sendo que a utilização do PCL aumenta a cristalinidade e propriedades mecânicas de elastômeros de poliuretanos (ZHANG et al., 2012; da SILVA et al., 2010), outra grande vantagem é sua degradação hidrolítica não apresentar a formação de produtos tóxicos (da SILVA et al., 2010; FERNANDEZ et al., 2006).

Visando avaliar o potencial de nanopartículas peguiladas de PU como sistema de liberação de fármaco, o desafio desta etapa do trabalho consiste em sintetizar um sistema de nanopartículas peguiladas capazes de interagir com a mucosa pulmonar, além de prolongar o seu tempo de residência no interior do pulmão. Nesta etapa do trabalho discute-se o efeito da concentração de surfactante, assim como o efeito da massa molar de PEG sobre as propriedades das nanopartículas de PEG-PU-PCL530. Finalmente, realizaram-se estudos *in vitro* para determinação da citotoxicidade das nanopartículas de PEG-PU-PCL530 com células pulmonares alveolares (A549). Os resultados apresentados nesta etapa do trabalho foram realizados em parceria com a Wayne State University – USA durante o período do doutorado sanduiche em laboratório aprovado pelo *Office of Environmental Health and Safety at Wayne State University* para trabalhar com experimentos *in vitro*.

## 5.2 MATERIAL E METODOS

### 5.2.1 Materiais

Diisocianato de isoforona (IPDI, 98 %, Mw 222 g/mol) e ciclohexano (97 %) foram adquiridos da Alfa Aesar. Poli(etilenoglicol)-diol com a massa molar de 400 Da (PEG400), 600 Da (PEG600) e 1000 Da (PEG1000) foram adquiridos da Fluka. Poli( $\epsilon$ -caprolactona) diol (PCL) com massa molar 530Da, (PCL530, Sigma-Aldrich) utilizado como polioli. Como surfactantes cetiltrimetil brometo de amônio (CTAB), polioxietileno lauril éter (Brij 35), polissorbato 80 (Tween 80) e dodecil sulfato de sódio (SDS) foram adquiridos a partir de Aldrich Chemicals Ltd. Crodamol, um triglicérido totalmente saturado utilizado como agente hidrófobo foi adquirido da empresa Alpha. Células A549 (linhagem de células de adenocarcinoma, pulmão humano, um modelo *in vitro* do tipo epitélio alveolar II). Meio Dulbecco Eagle modificado 1× glucose (DMEM, com e sem vermelho fenol), soro fetal bovino (FBS, Atlanta Biologicals, Lawrenceville, GA) e tampão salino fosfato (PBS, 10 x solução) foram adquiridos pela Fisher Chemicals. TrypLE™ Express Stable Tripsina e Penicilina-Estreptomicina foram adquiridos na Invitrogen. Transfast™ reagente de transfecção, MTS [(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-

carboximetoxifenil)-2-(4-sulfo-fenil)-2H-tetrazólio, sal interno] e PMS (fenazina metossulfato) adquiridos na Promega. Solução salina (HBSS - *Hank's Balanced Salt Solution*, GIBCO®), LysoTracker® vermelho (DND-99, Molecular Probes®), NucBlue™ (Hoechst 33342), 6-coumarin (98%, Sigma-Aldrich). Frascos de cultura (75 cm<sup>2</sup>, Cellstar) e placa de 96 poços de cultura (Corning) foram adquiridos na VWR. Água desionizada (DI - água, resistividade de 18,2 MΩ.cm) obtida a partir de NANOpure® DIamond™ UV água ultrapura do sistema (Barnstead Internacional).

### **5.2.2 Preparação das nanopartículas de PEG-PU-PCL530**

As nanopartículas PEG-PU-PCL530 foram sintetizadas por polimerização em miniemulsão de acordo com o procedimento descrito a seguir. A fase aquosa foi preparada, com 3 % - 20 % em massa de surfactante (SDS, Tween 80 e CTAB) em relação à fase orgânica e PEG (0 % - 40 % em massa em relação aos monômeros). A fase orgânica foi preparada com uma solução de IPDI:PCL530 em uma razão molar de 2,5 (NCO: OH) e Crodamol (20% em massa em relação à fase orgânica). O IPDI foi dissolvido em 2 mL de ciclohexano e reagido inicialmente com PCL530 mantidos sob agitação magnética durante 30 min a 40 °C. A fase aquosa foi então adicionada lentamente à fase orgânica sob agitação magnética durante 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida a miniemulsão foi preparada por sonificação da emulsão anterior em um tubo cilíndrico de vidro (150 mm x 25 mm) utilizando uma sonda ultrason microtip (Omni Ruptor 250, Omni International Inc.) programado para 40 W, durante um período de 6 min em um banho de gelo. As reações de polimerização foram realizadas a temperatura constante de 70 °C durante 3 horas em um reator de vidro encamisado (50 mL). Para obter as nanopartículas de PEG-PU-PCL530, ao final das reações a miniemulsão foi centrifugada e lavada 3 vezes com água deionizada. As nanopartículas foram então resuspensas em água deionizada e em seguida secas utilizando secador por pulverização (spray drier).

### **5.2.2 Estudos de degradação**

Os ensaios de degradação foram conduzidos a 37 °C para simular a temperatura dos tecidos vivos. Para tanto foram preparados filmes poliméricos (10 mm x10 mm de tamanho e aproximadamente 0,1 mm de espessura) através da secagem do latex final de poliuretana em estufa a 60 °C com circulação forçada de ar. Os filmes poliméricos obtidos foram dispostos em frascos individuais contendo 15 mL de solução tampão (pH 7,2) e em seguida incubados em estufa com controle de temperatura. As amostras foram retiradas em 3, 7, 10, 15, e 30 dias para determinação da

massa molar. Por outro lado, para a avaliação do pH e tamanho de partícula 5 mL da solução de PU sem centrifugação diluído em 15 mL de solução tampão (pH 7,2) foram analisados em 3, 7, 10, 15, 20, 25, 30 dias.

### **5.2.3 Caracterização das nanopartículas de PEG-PU-PCL530**

O diâmetro médio das nanopartículas de PEG-PU-PCL530 e o potencial zeta foram avaliados por dispersão dinâmica de luz (DLS, Zetasizer Nano). As amostras foram preparadas a uma diluição de 1:10 (látex final:água deionizada), sem centrifugação, e as medições foram realizadas em triplicata, a 25 °C. A morfologia das nanopartículas foi investigada em microscópio eletrônico de varredura (SEM - JSM-6510LV-LGS). As amostras foram primeiramente diluídas em água desionizada (1:10) e algumas gotas da suspensão de nanopartículas foram colocadas sobre uma lâmina de vidro e secas por 12 horas a temperatura ambiente. As amostras foram em seguida revestidas com uma fina camada de ouro (Ernest fullam) durante 30 segundos, as micrografias foram tomadas a 22 kV. As imagens de Microscópio de Força Atômica (AFM, Pico LE Molecular Imaging) foram obtidas operando em modo tapping. As amostras foram preparadas a partir da diluição do látex (1:100, látexes final:água deionizada) gotejados sobre uma superfície de vidro e seco à temperatura ambiente.

A massa molar das nanopartículas de PEG-PU-PCL530 foi determinada por cromatografia de permeação em gel (GPC) utilizando para tanto um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC, modelo LC-20A, Shimadzu) equipado com um detector de RID-10A, em THF, a 35 °C. Um conjunto de colunas foi utilizado que consiste em três colunas em série (300x8 mm GPC-801, 804 e GPC-GPC-807). As análises de GPC foram realizadas por injeção de 20 µL de uma solução a 0,5 % em massa de polímero tendo como solvente tetrahidrofurano (THF, Merck), previamente filtrado através de um filtro de teflon com mesh de 450 nm. As distribuições de massa molar e massas molares médias foram calculadas com base em padrões de poliestireno entre 580 g/mol e 3,8 milhões g/mol.

Para determinar a estrutura química do polímero os espectros de <sup>1</sup>HNMR foram obtidos à temperatura ambiente utilizando dimetilsulfóxido-d6 deuterado (DMSO-d6) como solvente, a uma concentração de 20 mg/ml em espectrômetro Varian Mercury 400, a 400 MHz. Os produtos da reação foram verificados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) utilizando um espectrofotômetro Tensor Bruker 27 em modo de reflexão total atenuada (ATR). As amostras de polímero foram dissolvidos em metanol a uma concentração de 5 mg/mL e gotejado sobre uma pastilha de NaCl. Todas as amostras foram analisadas a uma resolução

de  $1\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente. A banda de absorção com a localização do pico a  $2272\text{ cm}^{-1}$ , devido a  $\text{N}=\text{C}=\text{O}$  de vibração de alongamento dos grupos isocianato, foi atribuído para identificar o IPDI. A banda de absorção com a localização de pico entre  $1680\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$  do grupo N-H de ureia e a banda de absorção entre  $1740\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ , devido ao alongamento da vibração de  $\text{C}=\text{O}$  grupo de uretano, foram utilizados para identificar as nanopartículas de PEG-PU-PCL530 ao final das reações.

#### **5.2.4 Avaliação da citotoxicidade *in vitro***

Células A549 (linhagem de células de adenocarcinoma do pulmão humano, um modelo de epitélio alveolar do tipo II, *in vitro*) (passagem 83) foram semeadas em placas de cultura com 96 poços ( $1 \times 10^4$  células/poço) e cultivadas em  $100\ \mu\text{L}$  de DMEM suplementado com 10 % FBS e 1 % de antibióticos durante 24 h em estufa a  $37\text{ }^\circ\text{C}$  e 5 % de  $\text{CO}_2$ . As células foram lavadas duas vezes com PBS, e em seguida PBS contendo as nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 em diferentes concentrações (de 0 a  $5\text{ mg.mL}^{-1}$ ) foram adicionados as células. Estas foram incubadas durante 24 h em estufa a  $37\text{ }^\circ\text{C}$  e 5 % de  $\text{CO}_2$ . Após 24h as células foram lavadas duas vezes com PBS, e o meio contendo as nanopartículas foi substituído por meio de cultura DMEM (livre de partícula) e 20 mL MTS/PMS. As células foram incubadas nesta mistura por 4h em estufa a  $37\text{ }^\circ\text{C}$  e 5 % de  $\text{CO}_2$ . O MTS é bioreduzido por enzimas desidrogenase encontradas em células metabolicamente ativas produzindo formazano, que é solúvel no meio de cultura (Conti, 2012). A absorvância do formazano (490 nm) foi medida diretamente a partir da placa de cultura de 96 poços (Molecular Devices Spectra Max 250), sendo que esta quantidade é diretamente proporcional ao número de células vivas na cultura. A viabilidade celular (%) avaliada em triplicata de experimento foi então definida como a razão entre a absorvância das células tratadas (com nanopartículas) e não tratadas (controle).

#### **5.2.5 Determinação da colocação das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 em células A549**

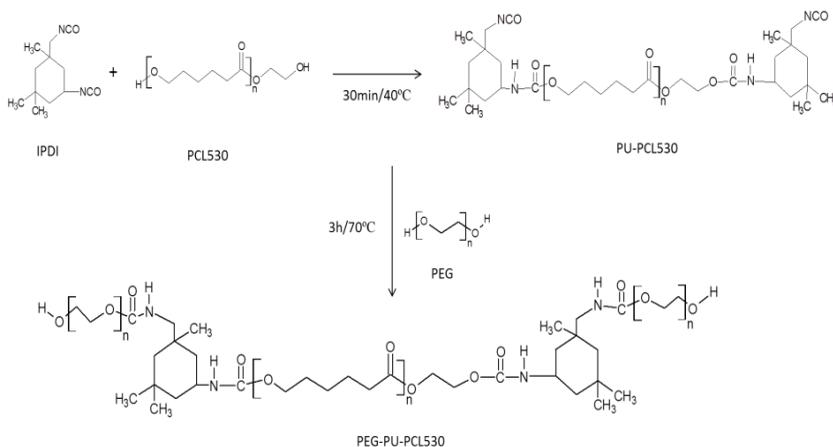
Células A549 (passagem 83) em uma concentração celular de  $5 \times 10^6$  (célula/poço) foram semeadas por poço na parte inferior da placa de vidro de 24 poços, e cultivadas em meio de cultura DMEM suplementado com 20 % (v/v) de FBS e 1 % (v/v), antibióticos (penicilina, estreptomicina) até 80-90 % de confluência. As células foram lavadas duas vezes com HBSS, incubadas com DMEN (sem glutamina, sem vermelho de fenol), a  $37\text{ }^\circ\text{C}$  durante 30 minutos, seguido por incubação com PU-

PCL-PEG400 contendo 6- coumarin (100 µg por poço) dispersos em DMEN (sem glutamina, sem vermelho de fenol) durante 4 h. Após esta primeira incubação, as células foram lavadas três vezes com HBSS e incubadas com Lyso Tracker ® vermelho (160 nm em HBSS) durante 30 min para corar os lisossomas. Após esta segunda incubação, as células foram lavadas três vezes com HBSS, incubadas com DMEN (sem glutamina, sem vermelho fenol), a 37 °C durante 30 minutos, seguido por incubação com NucBlueTM (2 gotas/mL) durante 30 minutos a fim de corar o núcleo. Finalmente, as células foram lavadas 3 vezes com HBSS, incubadas com HBSS a 37 °C e as imagens fluorescentes das células vivas foram capturadas utilizando um microscópio de fluorescência confocal com laser invertido (Leica TCS SP5), equipado com uma objectiva de óleo de 40X. 458 e 540 nm, 360 nm e 460, 577 e 590 nm, foram excitação e comprimentos de onda de emissão estabelecidos para o 6-coumarin, NucBlueTM e Lyso Tracker ® canais verde, azul e vermelho, respectivamente.

## 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

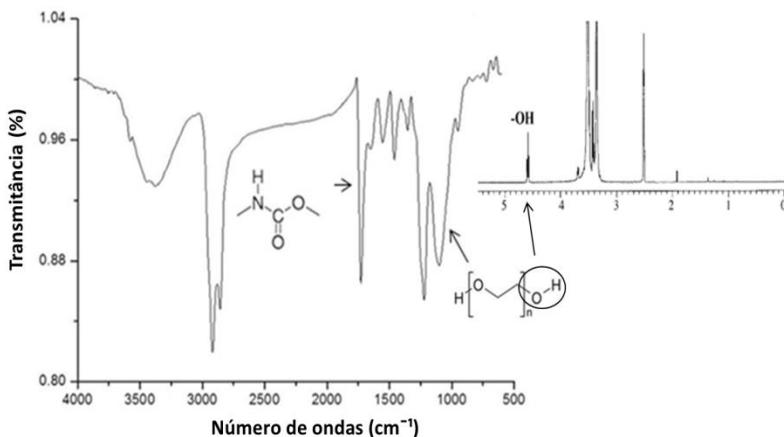
### 5.3.1 Caracterização e morfologia das nanopartículas de PEG-PU-PCL530

Para ligar (“pegular”) as cadeias de PEG na matriz de PU-PCL530 os grupos isocianato livres devem reagir com os grupos hidroxilas do PEG por poliadição. A síntese do PEG-PU-PCL530 é ilustrada na Figura 19.



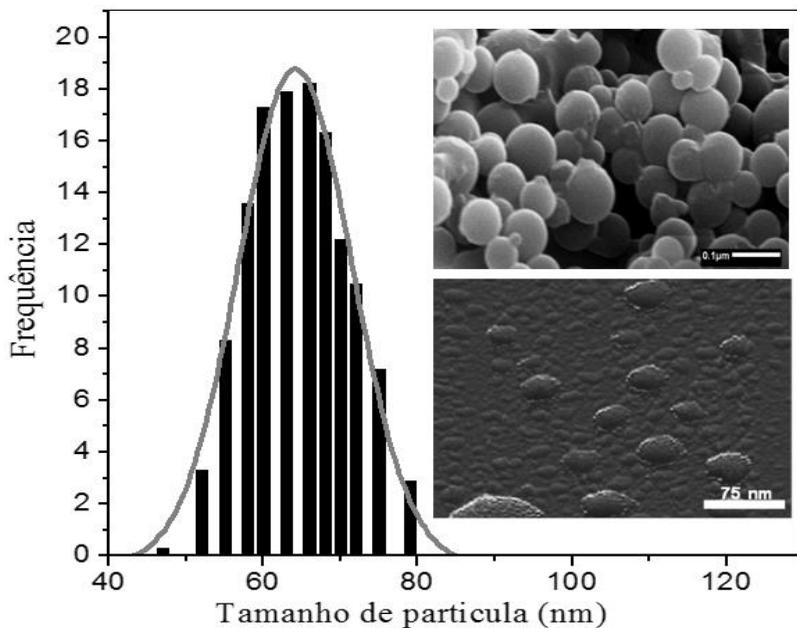
**Figura 19** - Diagrama esquemático da reação para obtenção de PEG-PU-PCL530.

Após as reações o espectro de FTIR das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 (Figura 20) confirmou a estrutura obtida apresentando banda de absorção típica de carbonila decorrente da ligação éster do PCL em  $1725\text{ cm}^{-1}$  e banda de absorção entre  $1740\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$  atribuído aos grupos carbonila ( $\text{C}=\text{O}$ ) do uretano. A ausência da absorção em  $2270\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{N}=\text{C}=\text{O}$  de vibração de alongamento) indica que todos os grupos isocianato foram consumidos durante o tempo de reação. Finalmente, é possível confirmar o pico de absorção entre  $1112\text{-}1116\text{ cm}^{-1}$ , relativo à presença de PEG ( $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ). A observação das bandas de absorção descritas acima confirma a formação de PEG400-PU-PCL530. Além disso, a estrutura do polímero foi confirmada por  $^1\text{H}$  RMN (Figura 13 à direita), exibindo os picos relativos dos dois componentes, PCL530 em 3,5 ppm correspondente aos prótons de etileno ( $\text{CH}_2\text{-O-C}=\text{O}$ ) e os prótons corresponde as hidroxilas livres do PEG400 em 4,56 ppm ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ).



**Figura 20** - Espectro de FTIR das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizada via polimerização em miniemulsão. *Figura superior à direita:* Espectro de  $^1\text{H}$  NMR da mesma amostra.

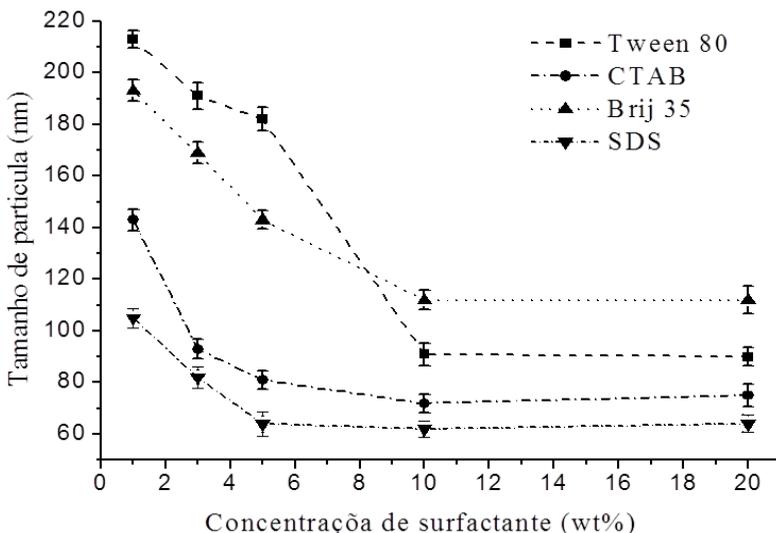
O tamanho das nanopartículas de PEG-PU-PCL530 foi avaliado por DLS, a  $25\text{ }^\circ\text{C}$ , assim como caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) e microscopia de força atômica (AFM), os resultados são apresentados na Figura 21. As imagens de SEM indicam que as nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 apresentam morfologia esférica e em boa concordância com os dados obtidos a partir de DLS. As imagens de AFM também confirmam o tamanho das nanopartículas.



**Figura 21** - Microscopia eletrônica de varredura (*figura superior esquerdo*), Microscopia de Força Atômica (*figura inferior à esquerda*) e distribuição de tamanho de nanopartículas poliuretano peguulado (PEG400-PU-PCL530).

### 5.3.2 Influência do tipo e concentração do surfactante na carga superficial e tamanho das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530

A concentração do surfactante é um fator importante em uma miniemulsão, sendo que concentrações mais elevadas de surfactante permitem a estabilização de grandes áreas interfaciais e, portanto, favorecem a formação de pequenas gotículas/partículas (TORINI et al., 2005). No entanto, a concentração de surfactante na fase contínua de uma miniemulsão deve estar abaixo da sua concentração micelar crítica (CMC) para evitar a presença de micelas. No presente trabalho, foram avaliadas três diferentes classes de surfactantes, não iônico (Tween 80 e Brij 35), catiônicos (CTAB) e aniônicos (SDS) em relação ao tamanho e estabilidade das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530.



**Figura 22** - Efeito do tipo e concentração de surfactante no tamanho das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 obtidas sob condições reacionais de: Razão molar IPDI:PCL530 2,5, 10 % PEG400, 20 % crodamol, 70 °C, 3 horas de reação.

Aumentando a concentração de surfactante de 1 % para 20 % em massa foi possível observar a diminuição do tamanho das partículas (Figura 22), a partir de 218 nm para 90 nm, 193 nm para 112 nm, 143 nm para 72 nm e 116 nm para 62 nm, respectivamente, para Tween 80, Brij 35, CTAB, e SDS, o mesmo comportamento pode ser observado para os índices de polidispersão, que foram reduzidos de 0,215 para 0,167, 0,218 para 0,152, 0,215 para 0,152 e 0,161 para 0,138, respectivamente para as concentrações de 20 % e 1 % para os surfactantes Tween 80, Brij 35, CTAB e SDS. O aumento da concentração de surfactante auxilia na estabilização das gotas de monômeros durante e após a sonificação diminuindo a sua coalescência e deste modo, conduzindo à formação de partículas menores com uma distribuição mais estreita (VALERIO et al., 2013).

Na obtenção da miniemulsão, o passo de homogeneização é de grande importância uma vez que pequenas gotículas relativamente monodispersas precisam ser obtidas. O tamanho das gotículas diminui com a quantidade de surfactante, tempo de sonificação e energia do ultrason. Para verificar a influência do tempo de sonificação sobre a distribuição e tamanho das nanopartículas, o tempo de sonificação foi variado entre 1 e 9 minutos utilizando sonda de ultrason a 40 % de potência mantendo constante a concentração surfactante em 10 % (m/m) para todas as reações.

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos na verificação da influência do aumento da taxa de cisalhamento sobre o tamanho das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530.

**Tabela 11** - Influência da taxa de cisalhamento no tamanho das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530. Condições reacionais: Razão molar IPDI:PCL530 2,5, 10 % PEG400, 20 % crodamol, 10 % surfactante, 70 °C, 3 horas de reação.

	<b>Tween 80</b>	<b>Brij 35</b>	<b>SDS</b>	<b>CTAB</b>
<b>Tempo (min)</b>	Dp/PdI	Dp/PdI	Dp/PdI	Dp/PdI
<b>1</b>	195/0,215	157/0,165	91/0,161	112/0,215
<b>3</b>	173/0,231	130/0,162	68/0,156	115/0,206
<b>6</b>	125/0,158	103/0,127	63/0,124	81/0,178
<b>9</b>	190/0,172	124/0,131	98/0,138	114/0,205

Os menores diâmetros de partícula obtidos para os surfactantes avaliados foram 125, 103, 63 e 81 nm, (Tabela 10), respectivamente, quando Tween 80, Brij 35, SDS e CTAB foram utilizados como surfactantes. Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com os resultados encontrados na literatura que reportam a redução de tamanho das gotas ao longo do tempo de sonificação (ASUA, 2002; SCHORK et al., 2005; LANDFESTER, 2006; ZANETTI-RAMOS et al., 2010). A diminuição é inicialmente pronunciada e é exponencial para os tempos de sonificação longos (ASUA, 2002; LI et al., 2005). Neste trabalho, foi observada a mesma tendência para todos os surfactantes em diferentes concentrações. Quando o tempo de sonificação foi aumentado de 1 para 6 min, o tamanho das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 diminuiu, mas, quando o tempo foi aumentada para 9 minutos, o tamanho das nanopartículas aumentou. Isto indica que a energia de cisalhamento fornecida pelo sonificador é eficaz na dispersão de gotículas de grandes dimensões, sugerindo a existência de condições ótimas de sonificação que levam a gotículas com tamanho mínimo.

O potencial zeta é uma função da carga superficial das partículas, a camada adsorvida na interface e natureza/composição do meio contínuo em que a partícula se encontra. A magnitude do potencial zeta é uma indicação da força de repulsão que está presente e pode ser utilizado para prever a estabilidade em longo prazo (FRITZEN-GARCIA et al., 2009). Surfactantes catiônicos (CTAB), não iônicos (Tween 80 e Brij 35) e aniônicos (SDS) foram testados a fim de discutir o efeito do mesmo na carga superficial, os resultados são mostrados na Tabela 11.

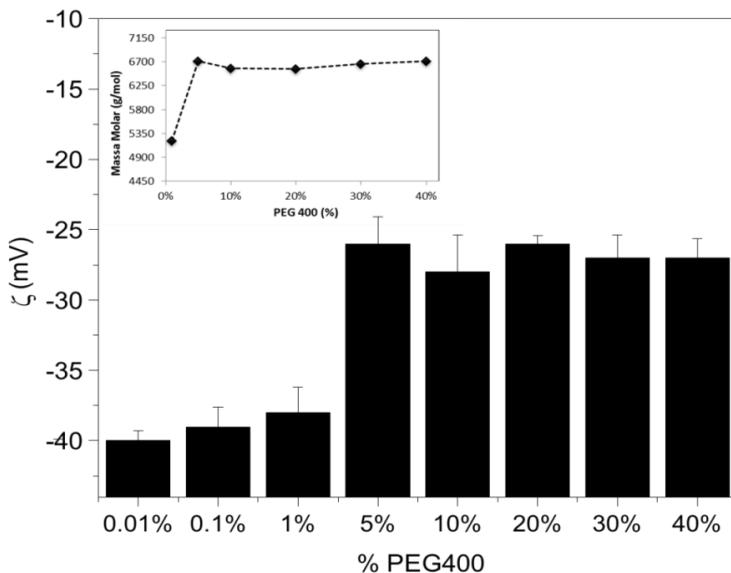
**Tabela 12** - Efeito do tipo e concentração de surfactante no potencial-zeta das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530. Condições reacionais: Razão molar IPDI:PCL530 2,5, 10 % PEG400, 20 % crodamol, 70 °C, 3 horas de reação.

	<b>Tween 80</b>	<b>Brij 35</b>	<b>SDS</b>	<b>CTAB</b>
<b>Conc. (%)</b>	$\zeta$ (mV)	$\zeta$ (mV)	$\zeta$ (mV)	$\zeta$ (mV)
<b>3</b>	-18±0,9	-19±1,4	-20±0,5	20±1,5
<b>5</b>	-15±1,0	-8±1,1	-25±1,2	34±0,6
<b>10</b>	-10±0,7	6±1,2	-29±0,9	60±1,2
<b>20</b>	-8±1,3	9±1,1	-28±1,4	66±1,3

Em relação aos surfactantes não iônicos, quando Tween 80 e Brij 35 foram utilizados os valores de potencial-zeta das nanopartículas reduziram a partir de -18 mV para -8 mV e -19 mV para 9 mV, respectivamente. Por outro lado o surfactante aniônico SDS aumentou a carga negativa das nanopartículas quando a concentração foi aumentada de -20 mV para -28 mV. O mesmo efeito foi observado para o surfactante catiônico CTAB, o valor do potencial-zeta aumentou de 20 mV para 66 mV. A tendência dos resultados observada utilizando os surfactantes Tween 80, SDS e CTAB neste trabalho estão de acordo com resultados reportados na literatura por MARINOVA et al. (1996), ZANETTI-RAMOS et al. (2008) e HAN et al. (2008) que relataram a mesma tendência de resultados, quando o tipo e a concentração do surfactante foi alterada. Por outro lado, não foi encontrada uma possível explicação para os resultados encontrados e apresentados neste trabalho para o efeito da variação do potencial-zeta com a variação da concentração do surfactante não iônicos Brij 35.

#### **5.3.4 Influência da massa molar do PEG e da concentração de PEG400 no tamanho das nanopartículas de PEG-PU-PCL530**

As nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas pela reação entre IPDI e PCL530 com razão molar de 2,5 utilizando 5 % de SDS, como surfactante apresentou redução da carga negativa a partir de -42 mV quando PEG 400 não foi utilizado para valores de até -27 mV para concentração de PEG400 acima de 5 %. O recobrimento da superfície das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 aumenta com um aumento da concentração de PEG 400 até que a cobertura da superfície foi completa (platô), como observado a partir das medições de potencial-zeta (Figura 23).



**Figura 23** - Influência da concentração de PEG400 na carga superficial ( $\zeta$ ) e massa molar (*figura superior à esquerda*) das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530.

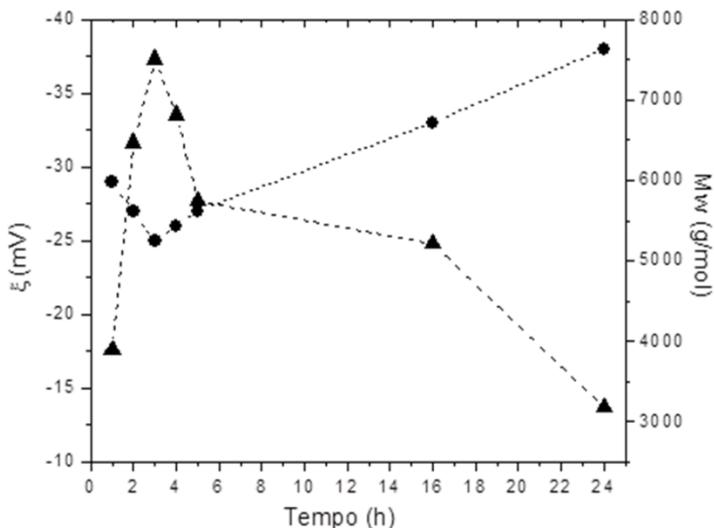
Um efeito com tendência semelhante foi observado na avaliação da massa molar do polímero (Figura 23 superior à esquerda), foi possível observar o aumento da massa molar das cadeias de PEG400-PU-PCL530 de 5211 g/mol, quando 1% de PEG400 foi utilizado para 6700 g/mol usando 40 % de PEG400. Por outro lado quando a reação foi conduzida sem a presença de PEG400 a massa molar encontrada foi 4896 g/mol. Assim como com o aumento da concentração de PEG, com o aumento da massa molar do PEG também foi possível aumentar a massa molar do PEG-PU-PCL530, um aumento mais pronunciado da massa molar foi observado quando PEG com massa molar 1000 Da foi utilizado. Utilizando 5 % de PEG com massa molar de 400 Da à massa molar do polímero obtido foi de 6514 g/mol e quando aumentado para 600 e 1000 Da à massa molar obtida para o PEG-PU-PCL530 foi de 7036 g/mol e 7425 g/mol, respectivamente.

A influência da massa molar do PEG no tamanho das nanopartículas de PEG-PU-PLC530 também foi avaliada e foi possível observar que sob as mesmas condições experimentais de razão molar IPDI: PCL530 2,5, 20 % crodamol e 5 % SDS como surfactante, as

nanopartículas apresentaram tamanho semelhante de 62 nm, 65 nm e 68 nm quando 10 % de PEG 400, PEG600, PEG1000 foram utilizados, respectivamente. Através da caracterização morfológica por SEM foi possível observar nanopartículas esféricas com tamanhos semelhantes aos observados por DLS.

### 5.3.5 Efeito do tempo de reação na pegulação

O modo como o PEG se liga/adere nas nanopartículas ocorre principalmente por adsorção física ou ligação covalente o que requer um dado intervalo de tempo para ocorrer (JAEGHERE et al., 2000; YONCHEVA et al., 2005). Para investigar o efeito do tempo de pegulação na incorporação das cadeias foram avaliados intervalos de tempo de 1 a 16 horas. A Figura 24 resume as principais características físico-químicas da mesma formulação preparada utilizando 5 % de PEG com massa molar 400 Da.



**Figura 24** - Efeito do tempo de pegulação no potencial-zeta (●) e massa molar (▲) das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530. Condições experimentais: razão molar IPDI: PCL530 2,5, 10 % de SDS, 20 % crodamol, 5 % de PEG 400, temperatura de reação 70 °C.

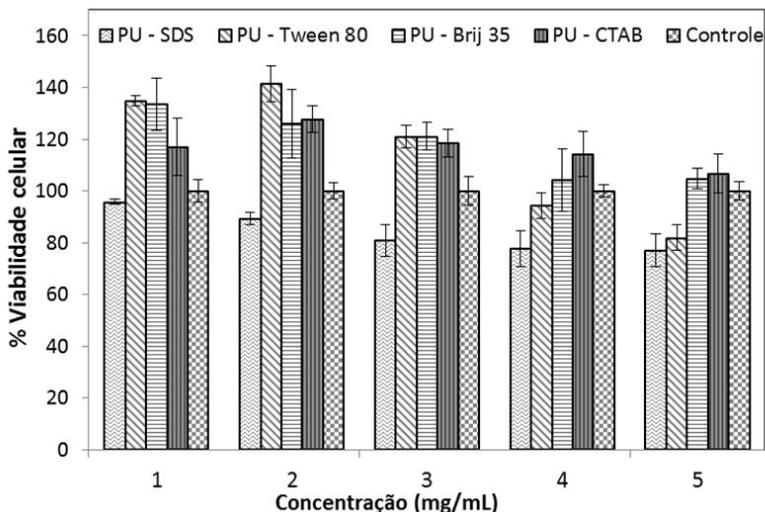
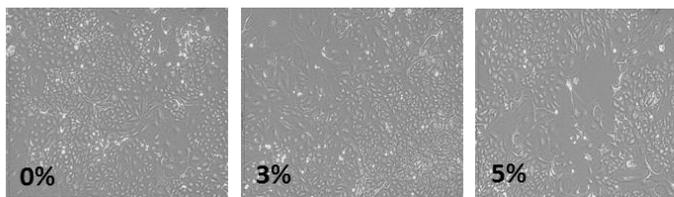
Como apresentado na Figura 24, após 3 horas do início da reação o valor de potencial-zeta variou de -36 mV para -25 mV. O aumento do tempo de reação para 6 horas apresentou resultados semelhantes quando 2

horas foram usadas como tempo de reação em termos de potencial-zeta. Por outro lado, quando o tempo de peguilação foi aumentado de 3 para 24 horas, o potencial-zeta tornou-se mais negativo variando a partir de -25 mV para -38 mV. A mesma tendência foi observada para as reações usando PEG 600 e PEG 1000 quando o tempo de peguilação aumentou de 3 horas para 24 horas, sendo que os valores encontrados para potencial-zeta foram de -26 mV para -38 mV e -28 mV para -39 mV, respectivamente, para PEG 600 e PEG 1000. Estes resultados indicam a quebra parcial da ligação éster PCL-PEG ocasionando a geração de grupos ácido carboxílico tornando a superfície das nanopartículas de PEG-PU-PCL mais negativas, como mostrado pelos valores de potencial zeta (HU et al., 2004).

Tal como observado nos resultados acima, quando o tempo de reação foi aumentado até 3 horas de reação observou-se um aumento da massa molar de 3896 g/mol para 7504 g/mol indicando a completa cobertura da superfície, sendo que especificamente para as reações estudadas neste trabalho o tempo de 3 horas de reação foi suficiente para as moléculas de PEG400 agregarem nas nanopartículas. Os resultados de GPC revelaram uma redução da massa molar para 3174 g/mol, quando o tempo de reação foi aumentado para 24 horas, como mostrado na Figura 24. Como relatado por HU et al. (2004), em estudo da degradação de um poli( $\epsilon$ -caprolactona)-b-poli(etileno-glicol)-b-poli( $\epsilon$ -caprolactona) copolímeros tribloco, este comportamento pode ser atribuído ao início da degradação hidrolítica das ligações éster principalmente na região de interface entre o PEG-PCL e a cisão parcial das ligações éster PCL-PU levando a redução da massa molar.

### **5.3.6 Citotoxicidade *in vitro* das nanopartículas de PEG400-PU-PCL em células A549**

A avaliação da viabilidade celular é um método útil para o estudo da citotoxicidade *in vitro* de biomateriais (CONTI et al., 2012). Nesta etapa do trabalho foi avaliada a citotoxicidade *in vitro* das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizados utilizando quatro diferentes tipos de surfactantes, sendo um catiônico, dois não-iônicos e um aniônico. Os experimentos *in vitro* foram realizados em células A549 e avaliados por ensaios de MTS. O MTS foi utilizado para avaliar os efeitos das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sobre a atividade metabólica das células A549 (Figura 25). A evidência de baixa citotoxicidade, com viabilidade celular acima de 70 %, foi observada para as nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 em todos os ensaios.



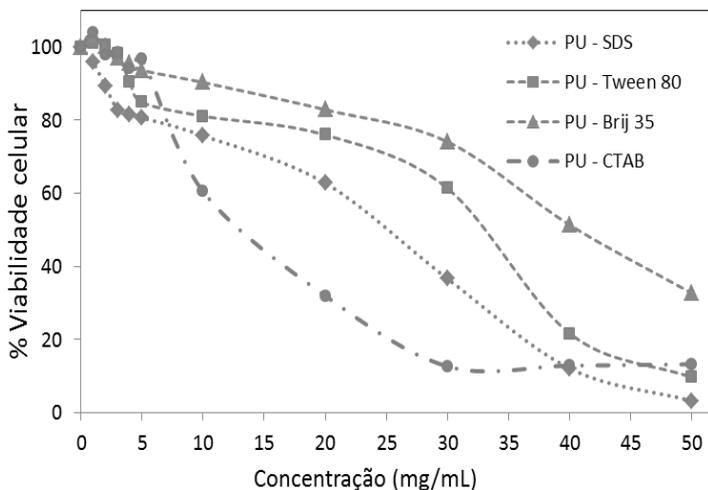
**Figura 25** - Avaliação *in vitro* da citotoxicidade das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas utilizando SDS, Tween 80, Brij 35 e CTAB como surfactante em células A549. Viabilidade celular em relação ao controle (sem NPs = 100 % de viabilidade celular) avaliada por ensaio de MTS. *Figura superior*: Morfologia celular (A549) com diferentes concentrações de nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas utilizando CTAB como surfactante.

Os resultados apresentados na Figura 25 indicam que a viabilidade das células A549 pode ser influenciada quando expostas a nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 durante 24 horas. O tempo de 24 horas foi escolhido com base na literatura, que reporta que produtos de degradação de PU não são citotóxicos em até 24h (TIMMER et al., 2003; DING et al., 2009). Como pode ser visto nos resultados apresentados na Figura acima, utilizando 5 mg/mL houve redução da viabilidade celular nas células A549 para 80 % para as nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas com surfactante SDS e Tween 80. Por outro lado, na mesma concentração nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas com Brij 35 e CTAB não apresentaram efeito tóxico quando em contato com as células A549

mantendo a viabilidade das células a cerca de 100 %. A observação da morfologia celular das células A549 (Figura 25, superior) mostra também baixa citotoxicidade quando CTAB foi usado como surfactante para obter as nanopartículas de PEG400-PU-PCL530.

DING et al. (2009), avaliaram a citotoxicidade de discos poliméricos de poli( $\epsilon$ -caprolactona uretano) sintetizado utilizando gemini quaternário de amônio como surfactante catiônico em células 3T3 (fibroblastos de camundongos). Os discos poliméricos estudados não apresentaram citotoxicidade significativa contra os fibroblastos. Mais de 90 % da viabilidade das células foi mantida mesmo quando expostas a uma concentração elevada de 100 mg/mL após um período de incubação de 48 h e 96 h. MINNEN et al. (2005), estudaram a citotoxicidade de espumas de PU utilizando fibroblastos de rato (linhagem L929). Os resultados histológicos dos experimentos *in vitro* indicaram boa biocompatibilidade de curto prazo quando as células foram colocadas em contato com a espuma de PU, não havendo sinais de inflamação aguda ou necrose em 24 horas.

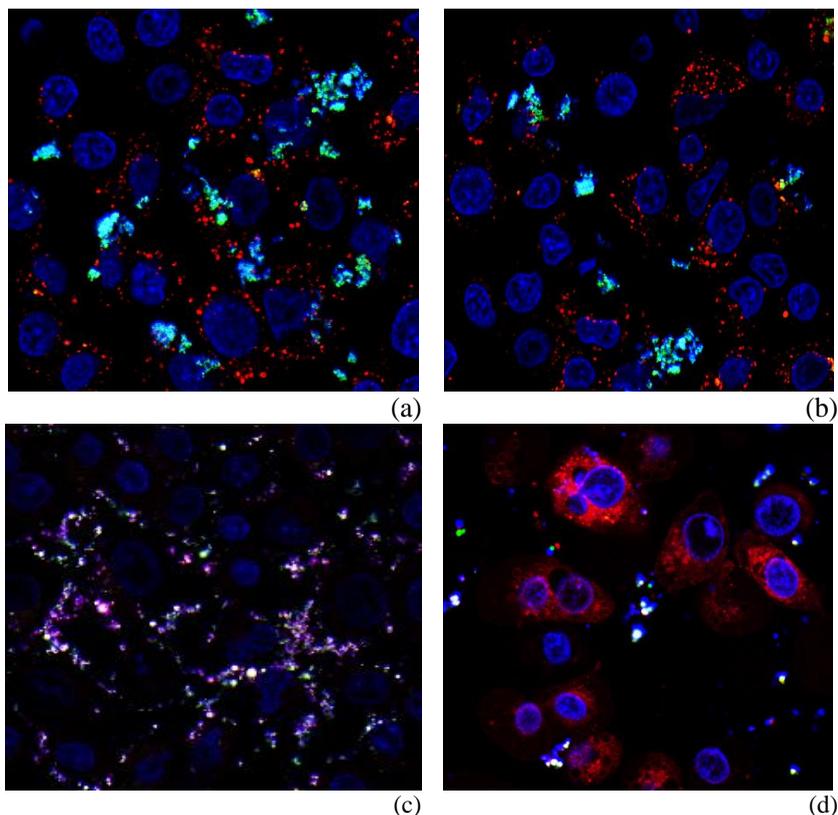
Com o objetivo de melhor caracterizar os efeitos citotóxicos das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 em diferentes concentrações sobre a atividade metabólica das células A549 estudos de viabilidade celular  $IC_{50}$  foram realizados. O valor de  $IC_{50}$  representa a concentração em que 50 % do crescimento das células é inibido. Os resultados obtidos neste estudo (Figura 26) indicaram uma redução na inibição do crescimento celular em células A549 em concentrações elevadas. O  $IC_{50}$  foi avaliado nas concentrações de 25, 30, 35 e 35 mg/mL com nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizados com SDS, Tween 80, CTAB e Brij 35 como surfactante.



**Figura 26** - Estudo comparativo de  $IC_{50}$  para nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas com diferentes surfactantes sob mesmas condições reacionais avaliadas por testes de MTS.

Os resultados obtidos indicam que a viabilidade celular foi afetada em diferentes níveis quando as células A549 foram expostas à nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 em diferentes concentrações para cada tipo de surfactante avaliado. Na Figura 26 é observado que quando Brij 35 foi utilizado como surfactante foram encontrados valores de viabilidade celular acima de 50 % com concentrações até 40 mg/mL. Por outro lado quando CTAB foi utilizado como surfactante em concentrações acima de 10 mg/mL a viabilidade celular apresentou-se inferior a 50 %.

Através da utilização de um microscópio confocal e a presença de um marcador fluorescente (6-coumarin) nas nanopartículas verificou-se a colocalização das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530-6-coumarin sintetizadas utilizando os surfactantes CTAB e Tween 80 nas células A549. A Figura 27 apresenta diferentes regiões das células A549 onde podem ser observados os núcleos (azul), lisossomos (vermelho) e as nanopartículas de PEG400-PU-PCL530-6-coumarin (verde). A utilização dessa técnica de microscopia possibilita não somente a visualização das nanopartículas nas células, mas também apontar o mecanismo de entrada celular assim como a localização das nanopartículas presentes no domínio celular.

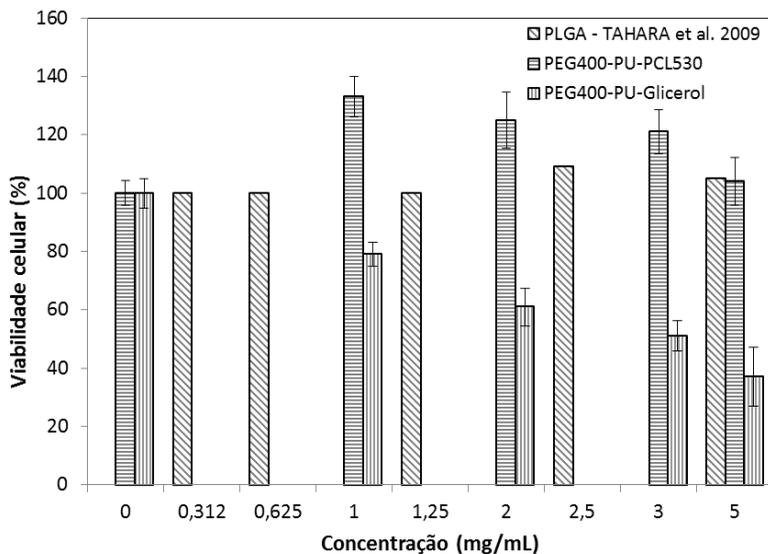


**Figura 27** – Imagens da colocalização de nanopartículas de PEG400-PU-PCL530-6coumarin em diferentes regiões das células A549 sintetizadas utilizando CTAB (a, b) e Tween 80 (c, d) como surfactantes.

Neste trabalho foram realizadas apenas imagens exploratórias para a verificação da presença ou ausência das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530-6-coumarin próximas ao núcleo ou lisossomos, dois importantes componentes celulares. A partir das imagens é possível observar a sobreposição das cores verde e vermelho (rosa) indicando sobreposição entre as nanopartículas de PEG400-PU-PCL530-6coumarin e os lisossomos e sobreposição das cores verde e azul (azul claro) indicando a sobreposição das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530-6coumarin com o núcleo da célula. Através das imagens de colocalização é possível afirmar que as nanopartículas sintetizadas nesse trabalho conseguiram permear na célula vencendo os mecanismos de defesa ou de barreira celular e permanecer próximas ao núcleo ou lisossomos das células A549. Assim como foi

possível verificar que quando CTAB foi usado como surfactante (Figura 27a e 27b) as nanopartículas encontraram-se preferencialmente nos lisossomos e quando Tween 80 (Figura 27c e 27d) foi usado como surfactante as nanopartículas encontraram-se principalmente no núcleo. DING et al. (2011) em seus estudos demonstraram que moléculas catiônicas podem promover uma absorção celular direta. No entanto, a entrada e tráfico de nanocarriadores dependem de muitos fatores como tamanho das partículas, forma, composição material, carga superficial, bem como tipo de célula. O mecanismo exato da captação celular pode ser muito mais complexo do que nosso atual conhecimento sendo necessários mais estudos para a compreensão.

A fim de comparar a citotoxicidade das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas neste trabalho, comparou-se a viabilidade celular entre nanopartículas de PU sintetizadas com Tween 80 como surfactante e glicerol, nanopartículas com Tween 80 como surfactante e PCL530 sob as mesmas condições descritas acima e nanopartículas de poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico), PLGA (dados da literatura, TAHARA et al., 2010). As nanopartículas de PLGA usados como referência foram sintetizadas pelos autores através de uma emulsão água-óleo-água (W/O/W) pelo método de evaporação do solvente tendo como surfactante poli(álcool vinílico) (PVA), e a citotoxicidade foi estudada nas concentrações de 0,312, 0,625, 1,25, 2,5 e 5,0 mg/ml e avaliadas por ensaio de MTS.



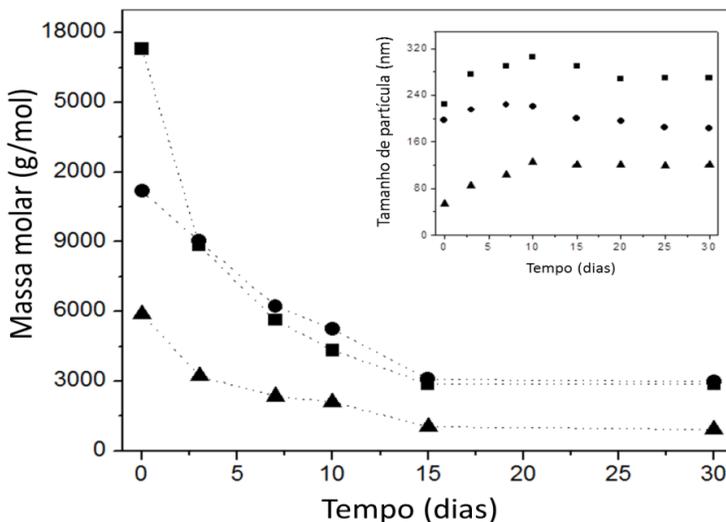
**Figura 28** - Citotoxicidade de diferentes nanopartículas em células A549 avaliadas por ensaio de MTS. Controles: nanopartículas PLGA (TAHARA et al., 2010) e glicerol-PU.

Os resultados mostrados na Figura 28 confirmam que os níveis de citotoxicidade das nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 são mais elevados quando comparadas com as nanopartículas sintetizadas usando glicerol como polioli. O aumento da concentração das nanopartículas de glicerol-PU de 1 mg/mL para 5 mg/mL resultou na redução da viabilidade das células A549 para valores de até 40 %. Por outro lado, nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 mostraram os mesmos níveis de viabilidade celular quando comparados com nanopartículas de PLGA em uma gama de concentrações semelhante.

O estudo comparativo entre nanopartículas de PU obtidas neste trabalho com nanopartículas de PLGA tem como grande relevância as boas características do PLGA como um copolímero bioabsorvível bastante promissor por sofrer degradação hidrolítica gerando produtos que são absorvidos pelo organismo, como o ácido láctico e o ácido glicólico e têm sido vastamente citado na literatura e utilizado em diferentes aplicações devido a sua baixa toxicidade, e baixa capacidade alergênica (TAHARA et al., 2010). Sendo assim, os resultados apresentados neste capítulo sugerem que as nanopartículas de PEG 400-PU-PCL530 não apresentam toxicidade para as células após a incubação de 4 horas, podendo ser comparada em termos de viabilidade celular com nanopartículas de PLGA.

### 3.5.1 Avaliação do perfil de degradação em função do tempo

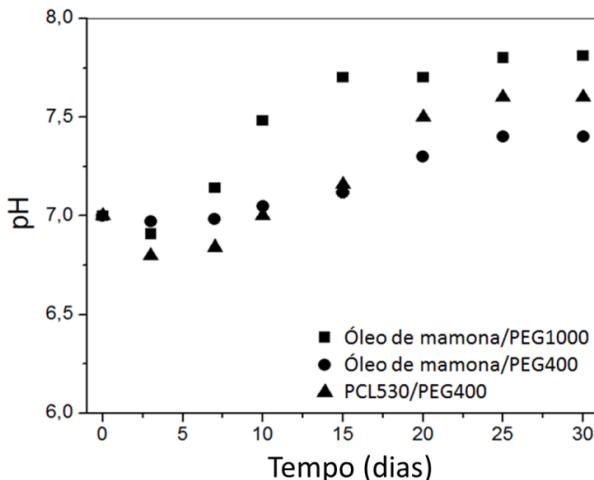
A fim de verificar o comportamento das nanopartículas de PU durante período de degradação através da determinação das massas molares das nanopartículas de PU por GPC observou-se que para todas as amostras a redução da massa molar associada com o tempo, como apresentado na Figura 29. Esta redução na massa molar em 30 dias pode ser atribuída a hidrofiliicidade dos segmentos presentes na composição das nanopartículas poliméricas de PU.



**Figura 29** - Redução da massa molar das nanopartículas de PU e avaliação do tamanho de partículas (*figura superior à direita*), usando como poliol óleo de mamona/PEG1000 (■), óleo de mamona/PEG400 (●) e PCL530/PEG400 (▲) durante ensaios de degradação a 37 °C.

Como apresentado na Figura 29, a redução da massa molar é mais acentuada nos primeiros 10 dias, havendo redução partir de 17297, 11178 e 5873 g/mol para 4324, 5234 e 2094 g/mol, respectivamente, para PU obtidas utilizando óleo de mamona/PEG1000, óleo de mamona/PEG400, e PCL530/PEG400 como poliols. Após 15 dias de degradação 83 %, 72 %, e 84 % da redução da massa molar observado nas amostras com óleo de mamona/PEG1000, óleo de mamona/PEG400 e PCL530/PEG400, respectivamente. WANG et al. (2011) e HUANG et al. (2006), em seus estudos atribuíram a diminuição da massa molar a quebra das cadeias de PU em fragmentos menores solúveis no meio aquoso. O comportamento também foi atribuído à absorção da água pelas

nanopartículas durante o período de incubação auxiliar as reações de hidrólise principalmente nas ligações com PEG e PCL. Neste trabalho esta hipótese é validada pela observação do aumento do tamanho das nanopartículas de PU, sendo que no início do tempo de degradação as nanopartículas apresentaram diâmetro inicial de 225, 197 e 53 nm para 270, 213 e 119 nm em 30 dias, respectivamente para óleo de mamona/PEG1000, óleo de mamona/PEG400 e PCL530/PEG400 (Figura 29 superior à direita).



**Figura 30** - Variação de pH durante o ensaio de degradação a 37 °C.

A variação do pH durante o intervalo de degradação também foi avaliada e os resultados são apresentados na Figura 30. Neste trabalho, como observado, os produtos de degradação ocasionaram um ligeiro aumento nos valores de pH em todas as reações estudadas com o tempo de degradação. WANG et al. (2011) em seus estudos relatou que a mudança nos valores de pH se devem a formação de alguns ácidos oriundos da degradação do polioliol assim como a formação da grupos amido levando ao aumento do pH. Neste trabalho verificou-se que após 30 dias de degradação o pH não apresentou variação apresentando-se em uma faixa que variou de 7,0 até 7,9, estes resultados sugerem que a geração de produtos de degradação com caráter ácido foram neutralizados por produtos de degradação com caráter básico mantendo assim o pH próximo ao inicial.

## 5.4 CONCLUSÕES

Neste capítulo observou-se que diferentes surfactantes podem ser usados na síntese de nanopartículas de PEG-PU-PCL530 via polimerização em miniemulsão, sendo que a concentração é responsável pela alteração da carga superficial das nanopartículas de PU. O tamanho e a massa molar das nanopartículas de PEG-PU-PCL530 foram influenciados pela concentração e massa molar do PEG, sendo que quando 5 % de PEG 400 foi utilizado a massa molar do polímero e o tamanho das nanopartículas de PU obtido foi de 6514 g/mol e 62nm, por outro lado, quando PEG 600 e PEG 1000 foram empregados na síntese de PEG-PU-PCL530 a massa molar e o tamanho das nanopartículas de PU foram 7136 g/mol e 65 nm e 7425 g/mol e 68nm, respectivamente para PEG600 e PEG1000. Com o aumento do tempo de reação de 1 para 3 horas, foi possível aumentar a massa molar do PU a partir de 3896 g/mol para 7504 g/mol, sob as mesmas condições o potencial-zeta variou de -36 mV no início da reação para -8 mV em 24 horas de reação sendo este efeito atribuído ao início da degradação hidrolítica, resultados estes confirmados por GPC. A influência do tipo de surfactante usado na síntese das nanopartículas de PU na toxicidade celular foi avaliada e os resultados *in vitro* revelaram que nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas com diferentes surfactantes não mostram efeito de inibição significativa, com viabilidade celular superior a 70 % nas células de A549. Nos ensaios de degradação foi possível observar a redução das massas molares assim como o inchamento das nanopartículas de PU com o tempo.

## 5.5 BIBLIOGRAFIA

AL-GHAMDI, G. H.; SUDOL, E. D; DIMONIE, V. D.; EL-AASSER, M. S. Encapsulation of titanium dioxide in styrene/*n*-butyl acrylate copolymer by miniemulsion polymerization. *Journal of applied polymer science*. 101, 3479-3486, 2006.

ANTONIETTI, M; LANDFESTER, K. Polyreactions in miniemulsions. *Progress in Polymer Science*. 27, 689-757, 2002.

ASUA, J. M. Miniemulsion polymerization. *Progress in polymer science*. 27, 1283-1346, 2002.

BARRÉRE, M.; LANDFESTER, K. High Molecular Weight Polyurethane and Polymer Hybrid Particles in Aqueous Miniemulsion. *Macromolecules*. 36, 5119-5125, 2003.

BOUCHEMAL, K.; BRIANÇON, S.; PERRIER, E.; FESSI, H.; BONNET, I.; ZYDOWICZ, N. *International Journal of Pharmaceutical*. 269, p.89, (2004).

CONTI, D. S.; BHARATWAJ, B.; BREWER, D.; da ROCHA, S. R. P. Propellant-based inhalers for the non-invasive delivery of genes via oral inhalation. *Journal of controlled release* 157(3): 406-417, 2012.

CRESPY, D. and LANDFESTER, K.; Miniemulsion polymerization as a versatile tool for the synthesis of functionalized polymers. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. 6, 1132–1148, 2010.

da SILVA, G. R.; da SILVA-CUNHA, A. J.; BEHAR-COHEN, F.; AYRES, E.; ORÉFICE, R. L. Biodegradation of polyurethanes and nanocomposites to non-cytotoxic degradation products. *Polymer degradation and stability* 95(4): 491, 2010.

de JAEGHERE, F., ALLEMANN, E., FEIJEN, J., KISSEL, T., DOELKER, E., GURNY, R. Cellular uptake of PEO surface-modified nanoparticles: evaluation of nanoparticles made of PLA:PEO diblock and triblock copolymers. *Journal of Drug Target*. 143–153, 2000.

DIAS, R. C. M.; GÓESB, A. M.; ORÉFICEA, R. L.; AYRESA, E.; SERAKIDES, R. Porous biodegradable polyurethane nanocomposites: preparation, characterization, and biocompatibility tests. *Materials research*. 13(2): 211-218, 2010.

DING, M.; LI, J.; FU, X.; ZHOU, J.; FU, Q. Synthesis, Degradation, and Cytotoxicity of Multiblock Poly( $\epsilon$ -caprolactone urethane)s Containing Gemini Quaternary Ammonium Cationic Groups. *Biomacromolecules* 10(10): 2857-2865, 2009.

DING, M.; HE, X.; WANG, Z.; LI, J.; TAN, H.; DENG, H.; FU, Q.; GUC, Q. Cellular uptake of polyurethane nanocarriers mediated by gemini quaternary ammonium. *Biomaterials* 32(35): 9515-9524, 2011.

FRITZEN-GARCIA, M. B.; OLIVEIRA, I. R. W. Z.; ZANETTI-RAMOS, B. G.; FATIBELLO-FILHO, O.; SOLDI, V.; PASAD, A. A.; CRECZYNSKI-PASA, T. B. Carbon paste electrode modified with pine kernel peroxidase immobilized on pegylated polyurethane nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical* 139(2): 570-575, 2009.

GAUDIN, F. and SINTES-ZYDOWICZ, N. Core-shell biocompatible polyurethane nanocapsules obtained by interfacial step polymerisation in miniemulsion. *Colloids and surfaces. A, Physicochemical and engineering aspects* 331(1-2): 133, 2008.

HAN, F.; LI, S.; YIN, R.; LIU, H.; XU, L. Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: Nanostructured lipid carriers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 315(1-3): 210-216, 2008.

HU, Y.; ZHANG, L.; CAO, Y.; GE, H.; JIANG, X.; YANG, C. Degradation Behavior of Poly( $\epsilon$ -caprolactone)-b-poly(ethyleneglycol)-b-poly( $\epsilon$ -caprolactone) Micelles in Aqueous Solution. *Biomacromolecules*. 1756 – 1762, 2004.

HUANG, M. H.; LI, S.; HUTMACHER, D. W.; COUDANE, J.; VERT, M. Degradation characteristics of poly( $\epsilon$ -caprolactone)-based copolymers and blends. *Journal of applied polymer science* 102(2): 1681-1687, 2006.

JABBARI, E.; KHAKPOUR, M. Morphology of and release behavior from porous polyurethane microspheres. *Biomaterials*. 21, 2073-2079, 2000.

JAIN, A. K.; GOYAL, A. K.; MISHRA, N.; VAIDYA, B.; MANGAL, S.; VYAS, S. P. PEG-PLA-PEG block copolymeric nanoparticles for oral immunization against hepatitis B. *International Journal of Pharmaceutics*. 253-262, 2010.

KABANOV, A. V.; LEMIEUX, P.; VINOGRADOV, S.; ALAKHOV, V. Pluronic® block copolymers: novel functional molecules for gene therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 54, 223-233, 2002.

LANDFESTER, K. Synthesis of colloidal particles in miniemulsions. *Annual Review of Materials Research*. 36:231-79, 2006.

LI, C. Y.; CHIU, W. Y.; DON, T. M. Preparation of Polyurethane Dispersions by Miniemulsion Polymerization. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, v. 43, 4870–4881, 2005.

MARCOS-FERNÁNDEZ, A; ABRAHAM, G. A.; VALENTIN, J. L.; SAN ROMAN, J. Synthesis and characterization of biodegradable non-toxic poly(ester-urethane-urea)s based on poly( $\epsilon$ -caprolactone) and amino acid derivatives. *Polymer (Guilford)* 47(3): 785-798, 2006.

MARINOVA, K. G.; ALARGOVA, R. G.; DENKOV, N. D.; VELEV, O. D.; PETSEV, N. D.; IVANOV, I. B. BORWANKAR, R. P. Charging of Oil–Water Interfaces Due to Spontaneous Adsorption of Hydroxyl Ions. *Langmuir*. v. 12, 8, p. 2045, 1996.

MINNEN, V. B.; LEEUWEN, M. B. M.; LEEUWEN, V.; STEGENGA, B.; ZUIDEMA, J.; HISSINK, C. E.; KOOTEN, T. G. V.; BOS, R. R. M. Short-term *in vitro* and *in vivo* biocompatibility of a biodegradable polyurethane foam based on 1,4-butanediisocyanate. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 16, 221-227, 2005.

MORRAL-RUÍZ, G.; SOLANS, C.; GARCÍA, M. L.; GARCÍA-CELMA, M. J. *Langmuir*. 28, 6256 – 6264, 2012.

OTSUKA, H.; NAGASAKI, Y.; KATAOKA, K. PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 55, 403-407, 2003.

SCHORK, F. J.; LUO, Y.; SMULDERS, W.; RUSSUM, J. P.; BUTTÉ, A.; FONTENOT, K. Miniemulsion Polymerization. *Advances in Polymer Science*. 175, 129–255, 2005.

TAHARA, K.; YAMAMOTO, H.; KAWASHIMA, Y. Cellular uptake mechanisms and intracellular distributions of polysorbate 80-modified poly (d,l-lactide-co-glycolide) nanospheres for gene delivery. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*. 75, 218-224, 2010.

TIARKS, F.; LANDFESTER, K. One-step preparation of polyurethane dispersions by miniemulsion polyaddition. *Journal of Polymer Science A: Polymer Chemistry*. 39, 2520-2524, 2001.

TIMMER, M. D.; SHIN, H.; HORCH, R. A.; AMBROSE, C. G.; MIKOS, A. G. *In Vitro* Cytotoxicity of Injectable and Biodegradable Poly(propylene fumarate)-Based Networks: Unreacted Macromers, Cross-Linked Networks, and Degradation Products. *Biomacromolecules*. 4, 1026-1033, 2003.

TORINI, L.; ARGILLIER, J. F. AND ZYDOWICZ, N. Interfacial Polycondensation Encapsulation in Miniemulsion. *Macromolecules*. 38, 3225-3236, 2005.

VALERIO, A.; ARAUJO, P. H. H.; SAYER, C. Preparation of poly(urethane-urea) nanoparticles containing açai oil by miniemulsion polymerization. *Polímeros*, 2013 (in print).

XU, D.; WU, K.; ZHANG, Q.; HU, H.; XI, K.; CHEN, K.; YU, X.; CHEN, J.; JIA, X. Synthesis and biocompatibility of anionic polyurethane nanoparticles coated with adsorbed chitosan. *Polymer*. 51, 1926-1933, 2010.

ZANETTI-RAMOS, B. G.; LEMOS-SENNA, E.; CRAMAIL, H.; CLOUTET, E.; BORSALI, R.; SOLDI, V. The role of surfactant in the miniemulsion polymerization of biodegradable polyurethane nanoparticles. *Materials Science & Engineering. C, Biomimetic materials, sensors and systems* 28(4): 526-531, 2008.

ZANETTI-RAMOS B. G.; FRITZEN -GARCIA M. B.; CRECZYNSKI-PASA T. B.; de OLIVEIRA C. S.; PASA A. A.; SOLDI V.; BORSALI R. Characterization of polymeric particles with electron microscopy, dynamic light scattering, and atomic force microscopy. *Particle Science Technology*. 28, 472-484, 2010.

ZHANG, Q.; SHI, Y.; ZHAN, X.; CHEN, F. In situ miniemulsion polymerization for waterborne polyurethanes: Kinetics and modeling of interfacial hydrolysis of isocyanate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 393(0): 17-26, 2012.

YONCHEVA, K.; LIZARRAGA, E.; IRACHE, J. M. Pegylated nanoparticles based on poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride): preparation and evaluation of their bioadhesive properties. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. (2005) 411-419.

YU, L.; L. ZHOU; DING, M.; LI, J.; TANA, H.; FU, Q.; HE, X. Synthesis and characterization of novel biodegradable folate conjugated polyurethanes. *Journal of Colloid and Interface Science*. 358, 376-383, 2011.

WANG, Z.; YU, L.; DING, M.; TAN, H.; LI, J.; FU, Q. Preparation and rapid degradation of nontoxic biodegrade able polyurethanes based on poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid) and l-lysine diisocyanate. *Polymer Chemistry*. 2, 601-607, 2011.

## CAPITULO VI

### CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES

Neste trabalho foram obtidas através da polimerização em miniemulsão nanopartículas de poli(ureia-uretano) com diferentes tipos polióis e surfactantes. Foi possível concluir que a escolha da temperatura de reação e o tipo de poliol apresentam ter grande importância na síntese de nanopartículas de PU com óleo de açaí, sendo estes responsáveis por influenciar fortemente a massa molar do polímero formado. O tamanho das nanopartículas de PU e a sua massa molar foram também influenciados pelo tipo surfactante assim como sua concentração. A utilização de surfactante Tween 80 permitiu a obtenção de nanopartículas de PU com diâmetro de partícula de 225 nm e massa molar em torno de 17000 g/mol. A morfologia das nanopartículas verificada por microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão possibilitaram a observação de nanopartículas lisas e esféricas com diâmetro semelhante aos determinados por difração dinâmica de luz.

Quando radiação microondas foi utilizada em comparação ao aquecimento convencional, foi possível aumentar as taxas da reação de polimerização na obtenção de poli(ureia-uretano) quando comparado com reações sob mesmas condições reacionais, mas utilizando aquecimento convencional. Os resultados obtidos apontaram para a diferença de solubilidade dos monômeros na fase aquosa quando as reações foram realizadas em reator microondas, assim como a diferença nos parâmetros dielétricos de cada componente. Assim como consequência, os efeitos das radiações microondas foram específicos para cada sistema. Um aumento significativo taxa de reação foi observada nas reações com o aumento da potência da radiação microondas. Nas reações de polimerização conduzidas a 300 W foi possível alcançar 97 % de conversão em 60 minutos, enquanto que para a mesma reação com aquecimento convencional (70 °C) foi necessário cerca de 4 horas para alcançar a mesma faixa de conversão. Os resultados obtidos estão relacionados com a propriedade de aquecimento uniforme da radiação microondas aumento assim rotação e uma maior interação entre monômeros. De frente aos resultados expostos neste trabalho foi possível verificar as várias vantagens da utilização de microondas sob a cinética do processo de polimerização, quando comparado ao aquecimento convencional, além da possibilidade da obtenção de um polímero com características distintas em termos de conteúdo de uretano/ureia somente associando a utilização da radiação microondas a diferentes tipos de poliols como o óleo de mamona, PEG, glicerol e 1,6-hexanodiol.

Diferentes classes de surfactantes (iônico, não iônico e catiônico) podem ser usadas na síntese de nanopartículas de PU via polimerização em miniemulsão, sendo que a concentração dos mesmos é responsável pela alteração da carga superficial das nanopartículas de PU. O tamanho e a massa molar das nanopartículas de PEG-PU-PCL530 foram influenciados pela concentração e massa molar do PEG, sendo que, quando 5 % de PEG 400 foi utilizado a massa molar do polímero e o tamanho das nanopartículas obtido foi de 6514 g/mol e 62 nm, respectivamente, e quando PEG 600 e PEG 1000 foram utilizados na síntese de PEG-PU-PCL530 a massa molar e o tamanho das nanopartículas obtidas foi 7136 g/mol e 65 nm e 7425 g/mol e 68 nm, respectivamente para PEG600 e PEG1000. Com o aumento do tempo de reação de 1 para 3 horas, foi possível aumentar a massa molar da PU a partir de 3896 g/mol para 7504 g/mol, sob as mesmas condições o potencial-zeta variou de -36 mV no início da reação para -8 mV em 24 horas de reação sendo este efeito atribuído ao início da degradação hidrolítica, resultados estes confirmados por GPC através da redução da massa molar. A influência do tipo de surfactante usado na síntese das nanopartículas de PU na toxicidade celular foi avaliada e os resultados *in vitro* revelaram que nanopartículas de PEG400-PU-PCL530 sintetizadas com diferentes surfactantes não mostram efeito de inibição significativa, superior a 70% nas células de A549. Ainda nos ensaios de degradação foi possível observar a redução das massas molares assim como o inchamento das nanopartículas de PU com o tempo.

Ao final do trabalho foi possível verificar que a literatura ainda apresenta uma grande lacuna em relação a diferentes áreas de estudo envolvendo nanopartículas poliméricas de poli(ureia-uretano), com isso, como sugestões para trabalhos futuros a partir deste trabalho pode-se citar: i) o estudo detalhado das rotas de degradação das nanopartículas de PU, assim como os produtos formados durante a degradação com alvo no estudo da variação do pH e nos eventuais efeitos tóxicos desses produtos na utilização de nanopartículas de PU como carreadores de fármaco; ii) a encapsulação de um fármaco no sistema de nanopartículas desenvolvido avaliando os mecanismos envolvidos na sua liberação.