UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

BRUNO AUGUSTO DE CASTRO SOUZA

Síntese e caracterização de copolímeros em blocos biocompatíveis do tipo poli(N-vinilcaprolactama)-b-poli(etileno glicol) para encapsulação do cetoprofeno utilizando a técnica de secagem por atomização

Lorena
2016

BRUNO AUGUSTO DE CASTRO SOUZA

Síntese e caracterização de copolímeros em blocos biocompatíveis do tipo poli(N-vinilcaprolactama)-b-poli(etileno glicol) para encapsulação do cetoprofeno utilizando a técnica de secagem por atomização

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química na área de novos materiais e química fina.

Orientador: Dr. Amilton Martins dos Santos

Edição reimpressa e corrigida

Lorena
Junho, 2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Souza, Bruno Augusto de Castro
Síntese e caracterização de copolímeros em blocos biocompatíveis do tipo poli(N-vinilcaprolactama)-b poli(etileno glicol) para encapsulação do cetoprofeno utilizando a técnica de secagem por atomização / Bruno Augusto de Castro Souza; orientador Amilton Martins dos Santos - ed. reimp., corr. - Lorena, 2016.
165 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Engenharia Química na Área de Novos Materiais e Química Fina) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2016
Orientador: Amilton Martins dos Santos

1. Poli(n-vinilcaprolactama). 2. Poli(etileno glicol). 3. Copolímero em bloco. 4. Secagem por atomização. 5. Cetoprofeno. I. Título. II. Santos, Amilton Martins dos, orient.

RESUMO

Souza, B. A. C. **Síntese e caracterização de copolímeros em blocos biocompatíveis do tipo poli(N-vinilcaprolactama)-b-poli(etileno glicol) para encapsulação do cetoprofeno utilizando a técnica de secagem por atomização.** 2016. 165 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo, 2016.

A utilização de polímeros biocompatíveis na formulação de partículas carreadoras de fármacos visando a redução da toxicidade, o controle da taxa de liberação ou o aumento da biodisponibilidade do princípio ativo, vem sendo amplamente estudada. Neste caso, para que o resultado desejado seja efetivo, em geral, é necessário agregar propriedades distintas de dois ou mais polímeros. Assim sendo, neste trabalho, duas rotas sintéticas foram estudadas para a síntese de copolímeros em blocos, do tipo poli(*N*-vinilcaprolactama)-b-poli(etileno glicol) (PNVCL-b-PEG). Inicialmente, estudou-se a síntese destes copolímeros via reações de acoplamento, entre a PNVCL-COOH, com terminação carboxila, e o mPEG-OH, com uma hidroxila terminal. Em seguida, avaliou-se a síntese dos copolímeros pelo mecanismo de Polimerização por Transferência Reversível de Cadeias via Adição-Fragmentação (RAFT), partindo-se da síntese de um macroagente de transferência de cadeia à base de PEG (mPEG-oEX), seguido da reação de extensão de cadeia utilizando a NVCL como monômero. Com base nos resultados de massa molar, distribuição de massa molar (PDI) e rendimento de reação, foi escolhida a rota sintética de esterificação para a síntese dos copolímeros em bloco. Os copolímeros obtidos foram empregados na formulação de partículas utilizando a técnica de secagem por atomização. Verificou-se que o tipo de solvente e a concentração dos solutos nas formulações são fatores importantes que afetam diretamente a morfologia das partículas finais. A eficiência de encapsulação do cetoprofeno foi superior a 80% e a eficiência de recuperação das partículas por atomização foi inferior a 60%. A encapsulação de cetoprofeno na matriz polimérica via atomização, resultou na redução da cristalinidade da droga, o que favoreceu o aumento na velocidade de liberação do fármaco.

Palavras-chave: Poli(N-vinilcaprolactama). Poli(etileno glicol). Copolímero em bloco. Secagem por atomização. Cetoprofeno.

ABSTRACT

Souza, B. A. C. **Synthesis and characterization of biocompatible block copolymers based on poly(N-vinylcaprolactam)-b-poly(ethylene glycol) for encapsulation of ketoprofen by spray drying technique**. 2016. 165 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo, 2016.

The use of biocompatible polymers in formulations of carrier particles for drugs aiming to reduce toxicity, to control the release rate or to increase the bioavailability has been widely studied. In this case, for the targeted result to be effective, normally, it is necessary the combinations of different proprieties of two or more polymers. Therefore, in this work, two synthetic routes were studied for the synthesis of block copolymers based on poly(N-vinylcaprolactam)-b-poly(ethylene glycol) (PNVCL-b-PEG). Initially, it was studied the synthesis of this copolymer by coupling reaction, between the PNVCL-COOH, with carboxylic end-group, and the mPEG-OH, with a hydroxyl end-group. Then, it was evaluated the synthesis of this copolymer by Reversible Addition-Fragmentation Chain-Transfer (RAFT) polymerization, started with the synthesis of a PEG-based macrochain-transfer agent (mPEG-oEX), followed by chain extension reactions, using NVCL as monomer. Based on the results of molar masses and molar masses distribution index (PDI), and the reaction yield, esterification was the synthetic route chosen for the synthesis of the block copolymers. The copolymers obtained were used in particles formulation via the spray drying technique. It was verified that the type of solvent and the solids content of formulation are important factors that affect directly the morphology of the final particles. The encapsulation efficiency of ketoprofen was higher than 80% and the particle recovery efficiency by spray drying was less than 60%. The ketoprofen encapsulation into polymeric matrix by atomization, resulted in the decrease of drug crystallinity, which favored the increase on drug release rate.

Keywords: Poli(Nvinylcaprolactam). Poli(ethylene glycol). Block Copolymer. Spray Drying. Ketoprofen.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Possíveis respostas para diferentes vias de administração de um agente ativo: (a) dose oral; (b) overdose oral; (c) intravenosa; (d) liberação controlada ideal.....20

Figura 2.2 – Representação esquemática de algumas nanopartículas aplicadas em sistemas de liberação de fármacos. Esferas vermelhas representam os princípios ativos.....23

Figura 2.3 – Ilustração do comportamento de um sistema sensível a estímulos para liberação controlada de drogas.....28

Figura 2.4 – Representação esquemática da mudança de conformação do poli(óxido de etileno), de uma estrutura enovelada (coil) para um glóbulo compacto insolúvel. As esferas de cor laranja representam as unidades de óxido de etileno e as esferas azuis as moléculas de água.....31

Figura 2.5 – Estrutura química da PNVCL.....33

Figura 2.6 – Micelas poliméricas formadas por copolímeros em bloco onde um dos blocos é a PNVCL e o outro um bloco hidrofóbico ou hidrofílico.....34

Figura 2.7 – Síntese de copolímeros em bloco (dibloco e tribloco): I) copolimerização "viva/controlada"; Adição sequencial de monômeros; II) acoplamento de cadeias lineares contendo funções diferentes (X e Y); III) mudança de mecanismo de polimerização; e IV) utilização de um iniciador bifuncional (ou "cabeça dupla"), o qual contém dois fragmentos de iniciação distintos I1 e I2. CLP1 = Polimerização "Viva/Controlada" ("Controlled/Living Polymerization") tipo 1. CLP2 = Polimerização "Viva/Controlada" tipo 2.....35

Figura 2.8 – Síntese do copolímero PNVC-b-PEG-FA.....38

Figura 2.9 – Esquema do mecanismo de acoplamento de ácidos carboxílicos com álcoois, utilizando como ativador a DCC e como catalisador a o DMAP.....41

Figura 2.10 – Esquema de polimerização via mecanismo RAFT.....47

Figura 2.11 – Representação estrutural dos agentes de transferência de cadeia empregados em reações de polimerização do tipo RAFT.....49

Figura 2.12 – Síntese de copolímeros em bloco, PEG-b-PNVCL, via mecanismo RAFT/MADIX.....51

Figura 2.13 - Estrutura química do Cetoprofeno.....52

Figura 2.14 – Representação esquemática do processo de secagem por atomização em um atomizador "Nano Spray Dryer", da marca Büchi, modelo B-90" a) e o sistema de malha de vibração b).....56

Figura 3.1 – Esquema da síntese da PNVCL com terminação carboxíla por polimerização via radicais livres em solução, utilizando ácido 3-mercaptopropiônico como agente de transferência de cadeia (CTA).....64

Figura 3.2 – Esquema das reações de acoplamento da PNVCL-COOH com mPEG-OH, utilizando DCC como agente de acoplamento e DMAP como catalisador.....66

Figura 3.3 – Esquema das reações de síntese do macroagente de transferência de cadeia do tipo mPEG-oEX.....69

Figura 3.4 – Esquema das reações de extensão de cadeia utilizando o macroagente RAFT mPEG-oEX, para obtenção dos copolímeros em bloco, mPEG-b-PNVCL.....72

Figura 3.5 – Nano Spray Dryer B-90 fabricado pela Büchi.....74

Figura 3.6 – Curva de calibração do cetoprofeno em tampão fosfato 7,4 obtida por espectrofotometria de UV/vis, em comprimento de onda de 260nm.....83

Figura 4.1 – Cromatogramas de GPC dos homopolímeros, PNVCL-COOH, sintetizados com diferentes razões molares entre agente de transferência de cadeia e monômero (CTA/NVCL).....88

Figura 4.2 – Espectro de RMN ^{1}H dos homopolímeros, PNVCL-COOH, sintetizados com 10 e 5% molar de CTA em relação ao monômero em clorofórmio deuterado.....89

Figura 4.3 – Espectro de RMN ^{1}H da *N*-vinilcaprolactama (NVCL), obtido em equipamento Varian Mercury, 300 MHz, utilizando clorofórmio deuterado como solvente e TMS como referência.....91

Figura 4.4 – Espectro de RMN ^{1}H da PNVCL-COOH, sintetizada com 10% de MPA (S1) e 5% de MPA (S2), em clorofórmio deuterado.....92

Figura 4.5 – Espectros de FTIR dos homopolímeros, PNVCL-COOH, obtidos nas reações S1 e S2.....93

Figura 4.6 – Cromatogramas de GPC dos homopolímeros de partida de poli(etileno glicol) de 2000 e 5000 g/mol.....94

Figura 4.7 – Espectros de RMN ^{1}H dos homopolímeros, mPEG-OH, de 2000 g/mol e de 5000 g/mol.....95

Figura 4.8 – Cromatogramas de GPC dos homopolímeros de partida, do produto da reação de acoplamento à temperatura ambiente (B1) e de uma mistura de PNVCL-COOH e mPEG-OH, na proporção 1:1.....98

Figura 4.9 – Cromatogramas de GPC do copolímero em bloco obtido pela reação B12, da mistura entre os homopolímeros de partida (PNVCL-COOH e mPEG-OH, na proporção 1:1) e dos homopolímeros de partida PNVCL-COOH e mPEG-OH. O solvente utilizado em todas as amostras foi o THF e o padrão PS.....99

Figura 4.10 – Cromatogramas de GPC dos produtos das reações de acoplamento, via reações de esterificação, com a utilização de homopolímeros de diferentes massas molares. (a) produto da reação B13, (b) B14, (c) B15, (d) B16 e seus respectivos homopolímeros de partida.....101

Figura 4.11 – Espectros de RMN ^{1}H dos copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-mPEG (A), obtidos nas reações B13 (I) e B14 (II) e das misturas físicas correspondentes (B).....102

Figura 4.12 – Espectros de FTIR dos homopolímeros iniciais, PNVCL-COOH e mPEG-OH, e dos copolímeros obtidos nas reações B13 (A) e B14 (B).....104

Figura 4.13 – Termogramas de DSC referentes ao segundo aquecimento dos homopolímeros de partida e dos copolímeros, PNVCL-b-mPEG, obtidos nas reações B13 (A) e B14 (B).....106

Figura 4.14 – Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) do homopolímero, PNVCL-COOH, obtido na reação S1 (5516 g/mol, Đ=1,37) e dos copolímeros em bloco, PNVCL-b-mPEG, obtidos nas reações B13 e B14.....109

Figura 4.15 – Cromatogramas de GPC (THF) dos reagentes utilizados nas sínteses (mPEG-OH), dos intermediários obtidos (mPEG-Br) e dos produtos finais das reações (mPEG-*o*EX).....111

Figura 4.16 – Espectro de RMN de ^{1}H em $CDCl_3$ do mPEG-OH de partida (I), mPEG-Br intermediário (II) e do macroagenteRAFT, mPEG-*o*EX (III). A) Reações utilizando o mPEG-OH de 2000 Da.....112

Figura 4.17 – Espectro de RMN de ^{1}H em $CDCl_3$ do mPEG-OH de partida (I), mPEG-Br intermediário (II) e do macroagenteRAFT, mPEG-*o*EX (III). A) Reações utilizando o mPEG-OH de 5000 Da.....113

Figura 4.18 – Cromatogramas de GPC dos materiais obtidos nas reações de polimerização da NVCL, utilizando como agente de controle, mPEG-oEX, de massas molares experimentais (GPC) de 2868 g/mol (A) e 7888 g/mol (B).....116

Figura 4.19 – Micrografia de MEV das partículas obtidas nos experimentos B13_NSD01 (A), B13_NSD03 (B), B13_NSD05 (C) e B13_NSD06 (D).....120

Figura 4.20 – Micrografia de MEV das partículas obtidas nos experimentos B13_NSD05 (A) e B13_NSD07 (B).....123

Figura 4.21 – Micrografia de MEV das partículas obtidas nas formulações NPE01 ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e razão mássica cetoprofeno:polímero = 30% (**A**), NPE02 ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ e razão mássica cetoprofeno:polímero = 30% (**B**), NPE03 ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e razão mássica cetoprofeno:polímero = 50%

(**C**), NPE04 ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ e razão mássica cetoprofeno:polímero = 50% (**D**) e do cetoprofeno puro (**E**).....127

Figura 4.22 – Difração de raios X das amostras de cetoprofeno puro (I), das formulações contendo 30 (II) e 50% (III) de cetoprofeno e das partículas sem cetoprofeno (IV). A Figura **(A)** apresenta os resultados obtidos utilizando-se o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e **(B)** o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$.....131

Figura 4.23 – Termogramas de DSC do cetoprofeno puro, das partículas contendo cetoprofeno encapsulado e do polímero puro secas por atomização. Os resultados utilizando o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ estão apresentados em **(A)** enquanto os resultados utilizando o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ estão apresentados em **(B)**.....132

Figura 4.24 – Espectro de FTIR das partículas de cetoprofeno encapsulado por atomização com razão droga/polímero de 50% (I) e de 30% (II), copolímero sem droga (III) e do cetoprofeno puro (IV). A Figura **(A)** apresenta os resultados obtidos com o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e **(B)** com o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$.....136

Figura 4.25 – Comparação do perfil de liberação entre os sistemas de dispersão sólida: cetoprofeno puro, partículas contendo 30% e 50% do fármaco e utilizando os copolímeros $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$.....138

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Exemplos de polímeros sensíveis à temperatura.....30

Tabela 2.2 – Síntese de copolímeros em bloco utilizando reações de acoplamento, a partir de polímeros pré-formados.....40

Tabela 2.3 – Principais vantagens da técnica de atomização em relação a métodos convencionais, tais como emulsão/evaporação do solvente e nanoprecipitação, para produção de fármacos puros ou fármacos encapsulados em matrizes poliméricas.....53

Tabela 2.4 - Principais diferenças entre o Nano Spray Dryer B-90 e o Mini Spray Dryer B-290, desenvolvidos pela Büchi.....58

Tabela 3.1 - Condições experimentais empregadas nas sínteses da PNVCL com terminação carboxila, utilizando o ácido 3-mercaptopropiônico como CTA.....65

Tabela 3.2 - Condições experimentais utilizadas nas sínteses dos copolímeros em bloco PNVCL-b-mPEG, através de reações de acoplamento da PNVCL-COOH (produto da reação S1) e do m-PEG-OH (com massa molar média, *Mn*, igual a 2000 g/mol).....67

Tabela 3.3 – Condições experimentais utilizadas nas sínteses dos copolímeros em bloco, PNVCL-b-mPEG, com diferentes massas molares.....68

Tabela 3.4 – Condições experimentais utilizadas na síntese do intermediário mPEG-Br de 2000 e 5000 g/mol.....70

Tabela 3.5 – Condições experimentais utilizadas a síntese do macroagente de transferência de cadeia mPEG-oEX de 2000 e 5000 g/mol.....71

Tabela 3.6 – Formulações avaliadas para a síntese do copolímero em bloco mPEG-b-PNVCL via mecanismo RAFT/MADIX.....72

Tabela 3.7 – Formulações estudadas para a otimização da morfologia e da distribuição de tamanhos das partículas, utilizando como matriz polimérica, o copolímero em bloco, PNVCL-b-mPEG, obtido na reação B13.....75

Tabela 3.8 – Formulações utilizadas na encapsulação do cetoprofeno, empregando como matriz polimérica, PNVC-b-mPEG, de diferentes massas molares.....76

Tabela 3.9 – Concentrações das soluções de Cetoprofeno em tampão fosfato, com pH 7,4 e leituras de Absorbância no UV/visível, em comprimento de onda de 260 nm.....82

Tabela 4.1 – Dados de massa molar média obtidos pelas técnicas de GPC, titulação condutimétrica e RMN ^{1}H para o produto das sínteses da poli(*N*-vinilcaprolactama) com terminação carboxila (PNVCL-COOH).....87

Tabela 4.2 – Resultados obtidos na caracterização dos homopolímeros, mPEG-OH pelas técnicas de GPC (THF, padrão PS) e RMN ^{1}H (Clorofórmio deuterado).....94

Tabela 4.3 - Dados de massa molar numérica média (*Mn*), dispersidade (Đ) e a característica das curvas de distribuição de massas molares, obtidos por GPC, para os copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-PEG, obtidos via reações de acoplamento, empregando DCC como agente de acoplamento e DMAP como catalisador.....96

Tabela 4.4 – Resultados obtidos por GPC para os copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-PEG, obtidos nas reações de acoplamento utilizando homopolímeros de massas molares diferentes.....100

Tabela 4.5 – Caracterização térmica por DSC, dos homopolímeros de partida e dos copolímeros, PNVCL-b-mPEG, obtidos nas reações B13 e B14.....107

Tabela 4.6 – Massa molar numérica média (*Mn*) e dispersidade (Đ), determinados por GPC, em THF, dos derivados de mPEG-OH, obtidos após as reações de substituição.....111

Tabela 4.7 – Resultados de massa molar e dispersidade, determinados por GPC, em THF, dos materiais obtidos nas reações de polimerização da NVCL, utilizando como agente de controle, mPEG-oEX, de massas molares experimentais (GPC) de 2868 g/mol e 7888 g/mol.....115

Tabela 4.8 – Resultados dos cálculos de eficiência de recuperação das partículas e da taxa de alimentação da solução inicial.....124

Tabela 4.9 – Eficiência de encapsulação (EE) e teor de fármaco na amostra (TF), determinados pela técnica de UV/Vis, e eficiência de recuperação (ER) e taxa de alimentação obtidas por gravimetria.....125

LISTA DE SÍMBOLOS

ACPA –Ácido 4,4'-azobis(4-ciano pentanóico)

AIBN - 2,2'-azo-bis-isobutironitrila

CMC - concentração micelar crítica

CTA – agente de transferência de cadeia

DCC – diciclohexilcarbodiimida

Đ - dispersidade

DMAP – dimetiaminopiridina

DNA - ácido desoxirribonucleico

DSC - calorimetria exploratória diferencial

FTIR - espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

GPC – cromatografia de permeação em gel

LCST - temperatura crítica inferior de solubilização

mCTA – macroagente de transferência de cadeia

$\overline{Mn}$ – massa molar numérica média

MPA – ácido 3-mercaptopropiônico

mPEG – poli(etileno glicol) metil éter

mPEG-oEX – poli(etileno glicol) *o*-etilxantato (macroagente de transferência de cadeia do tipo RAFT)

$\overline{Mw}$ – massa molar ponderal média

NHS - N-hidroxisuccinimida

NIPAAm - N-Isopropilacrilamida

NVCL – *N*-vinilcaprolactama

PDI - distribuição de massa molar

PEG – poli(etileno glicol)

PEG-OH – poli(etileno glicol) com uma função hidroxila na extremidade

PHA - polihidroxialcanoato

PHB - poli-3-hidroxibutirato

PHBHV - poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)

PNVCL – poli(*N*-vinilcaprolactama)

PNVCL-COOH – poli(*N*-vinilcaprolactama) com terminação carboxila

$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ – Copolímero em bloco. PNVCL: $Mn_{(GPC)}$=5516 g/mol, mPEG $Mn_{(GPC)}$=2423 g/mol

$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ – Copolímero em bloco. PNVCL: $Mn_{(GPC)}$=5516 g/mol, mPEG $Mn_{(GPC)}$=7871 g/mol

RMN ^1H - Ressonância Magnética Nuclear de próton

T_g – temperatura de transição vítrea

T_m – temperatura de fusão

UCST - temperatura crítica superior de solubilização

V-70 - 2,2'-azobis(4-metoxi-2,4-dimetilvaleronitrila)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 19

2.1. Sistema para liberação controlada de princípios ativos 19

2.1.1. Nanopartículas com potencial para aplicações na área farmacêutica 22

2.2. Polímeros biocompatíveis e biodegradáveis 26

2.3. Polímeros sensíveis a estímulos ou "Inteligentes" 28

2.3.1. Propriedades termossensíveis da poli(N-vinilcaprolactama) 32

2.4. Síntese de copolímeros em bloco 35

2.4.1. Síntese de polímeros telequélicos para utilização como precursores na síntese de copolímeros em bloco 36

2.4.2. Síntese de copolímeros em bloco via reações de acoplamento 39

2.4.3. Polimerização Radicalar por Desativação Reversível (RDRP) 44

2.5. Encapsulação de cetoprofeno por atomização 52

2.5.1. Secagem por atomização ("*spray drying*") 54

3 MATERIAIS E MÉTODOS 63

3.1. Reagentes e solventes 63

3.2. Métodos 64

3.2.1. Síntese da poli(*N*-vinilcaprolactama) com grupos carboxílicos terminais (PNVCL-COOH) 64

3.2.2. Síntese dos copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-mPEG, via reações de acoplamento 66

3.2.3. Síntese dos copolímeros em bloco, PNVCL-b-mPEG, via mecanismo de polimerização por transferência reversível de cadeia por adição-fragmentação (RAFT/MADIX) 68

3.2.4. Obtenção de partículas constituídas de copolímeros em bloco mPEG-*b*-PNVCL via secagem por atomização ("spray drying") 73

3.2.5. Encapsulação de cetoprofeno nas matrizes poliméricas 75

3.2.6. Caracterizações 77

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 86

4.1. Síntese do copolímero em bloco, PNVCL-b-mPEG, via reações de acoplamento 86

4.1.1. Síntese da poli(*N*-vinilcaprolactama) com grupos carboxílicos terminais (PNVCL-COOH) 86

4.1.2. Reações de acoplamento 93

4.1.3. Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) 108

4.2. Síntese do copolímero em bloco, mPEG-b-PNVCL, via Polimerização Radicalar por Desativação Reversível (RDRP), tipo RAFT/MADIX..... 110

4.2.1. Síntese do macroagente de transferência de cadeia, (mPEG-oEX).....110

4.2.2. Síntese do copolímero em bloco de mPEG-b-PNVCL via reações RAFT/MADIX 115

4.3. Preparação das nanopartículas utilizando a técnica de secagem por atomização ("spray drying")..... 118

4.3.1. Otimização do processo de secagem por atomização 119

4.3.2. Encapsulação do cetoprofeno nas matrizes poliméricas..... 124

4.4. Cinética de liberação do cetoprofeno "*in vitro*" 137

5. CONCLUSÃO 142

REFERÊNCIAS 144

1 INTRODUÇÃO

Polímeros sintéticos biodegradáveis e/ou biocompatíveis vêm sendo amplamente estudados para aplicações biomédicas, principalmente no transporte e liberação controlada de diferentes princípios ativos, visando reduzir sua toxicidade, degradação, aumentar a biodisponibilidade e o tempo de circulação na corrente sanguínea e direcionar um determinado agente ativo para um sítio específico no organismo. Outra característica importante de alguns polímeros, com potencial para aplicações em sistema de liberação controlada de ingredientes ativos é a sua resposta a mudanças externas, físicas ou químicas, como variação de pH, temperatura, campo magnético, elétrico, etc. Tais polímeros são denominados “inteligentes” ou sensíveis a estímulos e esta propriedade pode ser usada para incorporar ou liberar substâncias ativas. Um polímero sensível à temperatura muito estudado atualmente para aplicações biomédicas é a poli(N-vinilcaprolactama) (PNVCL), um polímero biocompatível, atóxico, solúvel em água, com LCST (Temperatura Crítica Inferior de Solubilização) próxima à temperatura fisiológica (33 – 38 °C). Tais propriedades indicam que a PNVCL é apropriada para aplicações biomédicas, podendo ser empregada, portanto, como um núcleo hidrofóbico de micelas, em temperaturas acima da LCST. Um polímero comumente aplicado em sistemas de liberação controlada de princípios ativos é o poli(etileno glicol) (PEG). Dentre as principais propriedades desse polímero, destaca-se sua natureza hidrofílica, atóxica, não iônica, flexível e semicristalina, associadas ao baixo custo do material. O PEG foi aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) para aplicações intravenosas, oral e transdérmica em humanos. Além disso, possui uma baixa taxa de deposição de material proteico, diminuindo a ligação às proteínas plasmáticas, agregação de eritrócitos e impedindo o reconhecimento pelo sistema imunológico. Assim, o emprego de segmentos de PEG como bloco hidrofílico na elaboração de macromicelas, pode impedir que o agente ativo sofra ataques indesejáveis em meios biológicos prolongando a sua circulação in vivo. A seleção de um polímero adequado é um pré-requisito fundamental para a elaboração de micro e nanopartículas para encapsulação de substâncias ativas. Para essa seleção,

todas as propriedades dos materiais poliméricos, como estrutura química e massa molar, devem ser cuidadosamente avaliadas. Reunir todas as propriedades desejáveis em um único polímero não é uma tarefa fácil, porém este objetivo pode ser alcançado, dentre outros métodos, através da síntese de copolímeros em bloco.

O emprego de polímeros ou copolímeros biocompatíveis na encapsulação de drogas lipofílicas, vem sendo intensamente estudado nos últimos anos (MALODE et al., 2014). Estas macromoléculas podem interagir com o princípio ativo, de acordo com o método utilizado para a encapsulação, reduzindo a cristalinidade da droga, e assim, aumentando sua solubilidade e, consequentemente, sua biodisponibilidade em aplicações *in vivo*. O cetoprofeno é um anti-inflamatório não-esteroidal (AINE) derivado do grupo ácido propióico, classificado como um composto SBC classe II, isto é, apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade (CHAN et al., 2015). Assim, o aumento da solubilidade deste fármaco pode proporcionar uma maior eficácia no tratamento de processos inflamatórios. Dentre os métodos utilizados para encapsulação do cetoprofeno que visa, dentre outros, o aumento de sua biodisponibilidade destaca-se a técnica de secagem por atomização (GUE et al., 2015; SCHAFROTH et al., 2012). Este método baseia-se na transformação de um líquido (soluções, emulsões, suspensões, etc.) em um pó sólido, pela evaporação do solvente devido a troca de calor com o gás de secagem.

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar duas rotas de síntese para a obtenção de copolímeros em bloco, biocompatíveis e sensíveis a temperatura, para utilização na encapsulação do cetoprofeno pela técnica de secagem por atomização. Copolímeros em bloco, constituídos por um bloco de poli(N-vinilcaprolactama) e um bloco de poli(etileno glicol), foram sintetizados via duas rotas distintas, ou seja, via reações de acoplamento entre homopolímeros com funções reativas terminais e pela Polimerização Radicalar por Desativação Reversível (RDRP) do tipo RAFT. Os copolímeros obtidos foram utilizados como matrizes na encapsulação do cetoprofeno, empregando a técnica de secagem por atomização.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Sistema para liberação controlada de princípios ativos

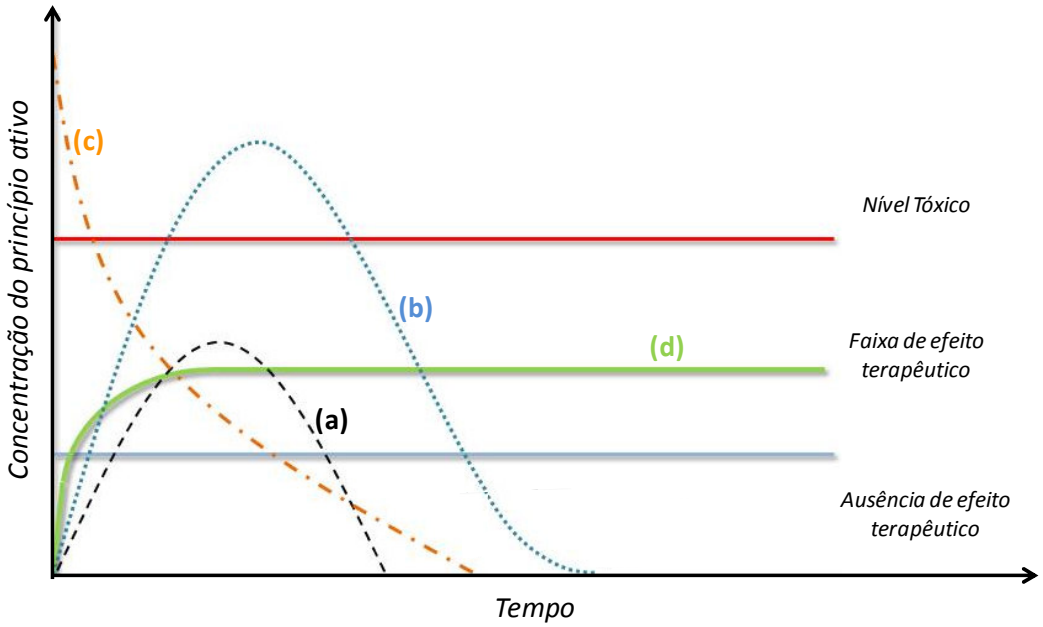
Um sistema de liberação de droga é definido como uma formulação ou um dispositivo que permite a introdução de um agente terapêutico no organismo e melhora sua eficácia e segurança por meio do controle da taxa, do tempo e do local de liberação da droga no organismo. Este processo inclui a administração do produto terapêutico, a liberação dos princípios ativos pelo produto e o transporte dos ingredientes ativos através das membranas biológicas para o local de ação (BASSYOUNI et al., 2015). O desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos mais eficazes se justifica pelas inúmeras dificuldades deparadas pelo método convencional de administração de medicamentos (KUMAR, 2000; LASSALE; FERREIRA, 2007).

Em tratamentos médicos convencionais, drogas são administradas durante pequenos intervalos de tempo através da ingestão de pílulas, líquidos ou por injeção. Estas drogas circulam pelo corpo e a concentração do agente ativo aumenta após progressivas administrações, então, declinando devido à excreção e/ou conversão metabólica. Assim, para conseguir um nível de concentração de princípio ativo terapeuticamente efetivo e por um maior tempo, altas doses são necessárias, podendo-se ultrapassar o nível toxicológico do princípio ativo e, consequentemente, causar distúrbios ao organismo (OLIVEIRA, 2008).

Ao ser ingerido, um fármaco pode assumir três níveis de concentração no organismo: (1) o nível sub-terapêutico, no qual sua concentração é inferior à necessária, (2) o nível terapêutico, em que o fármaco possui a função terapêutica requerida e, finalmente, (3) o nível tóxico, no qual a concentração do fármaco é excessiva, podendo causar reações adversas ao organismo. A Figura 2.1 apresenta as possíveis respostas de várias vias de administração de um princípio ativo. Nesta figura, a condição ideal seria a liberação controlada e gradativa do

princípio ativo (d), ou seja, uma concentração constante que seja efetiva, por um longo tempo (DUMITRIU; DUMITRIU, 1993).

Figura 2.1 - Possíveis respostas para diferentes vias de administração de um agente ativo: (a) dose oral; (b) overdose oral; (c) intravenosa; (d) liberação controlada ideal.



Fonte: Dumitriu e Dumitriu (1993).

Em sistemas convencionais, além da concentração do princípio ativo variar no organismo com o tempo, a eficácia do tratamento também é diminuída devido a inexistência de um mecanismo de direcionamento do fármaco para um tecido ou órgão específico, fazendo com que a droga atinja tecidos saudáveis causando reações adversas, comuns em tratamentos oncológicos (MAHAKAL, 2015; ACCARDO; MORELLI, 2015), ademais, pode haver a excreção ou metabolização do ingrediente ativo antes de atingir o local de ação (KUMAR, 2000; MUNDARG et al., 2008).

Tendo em vista as limitações dos sistemas de administração convencional de princípios ativos surge o interesse em desenvolvimento de sistemas mais eficientes e seguros para administração de drogas. Assim, os sistemas de liberação controlada de drogas, apresentam-se como alternativa interessante para a área farmacêutica. Tais sistemas apresentam inúmeras vantagens com relação ao método tradicional de administração de medicamentos

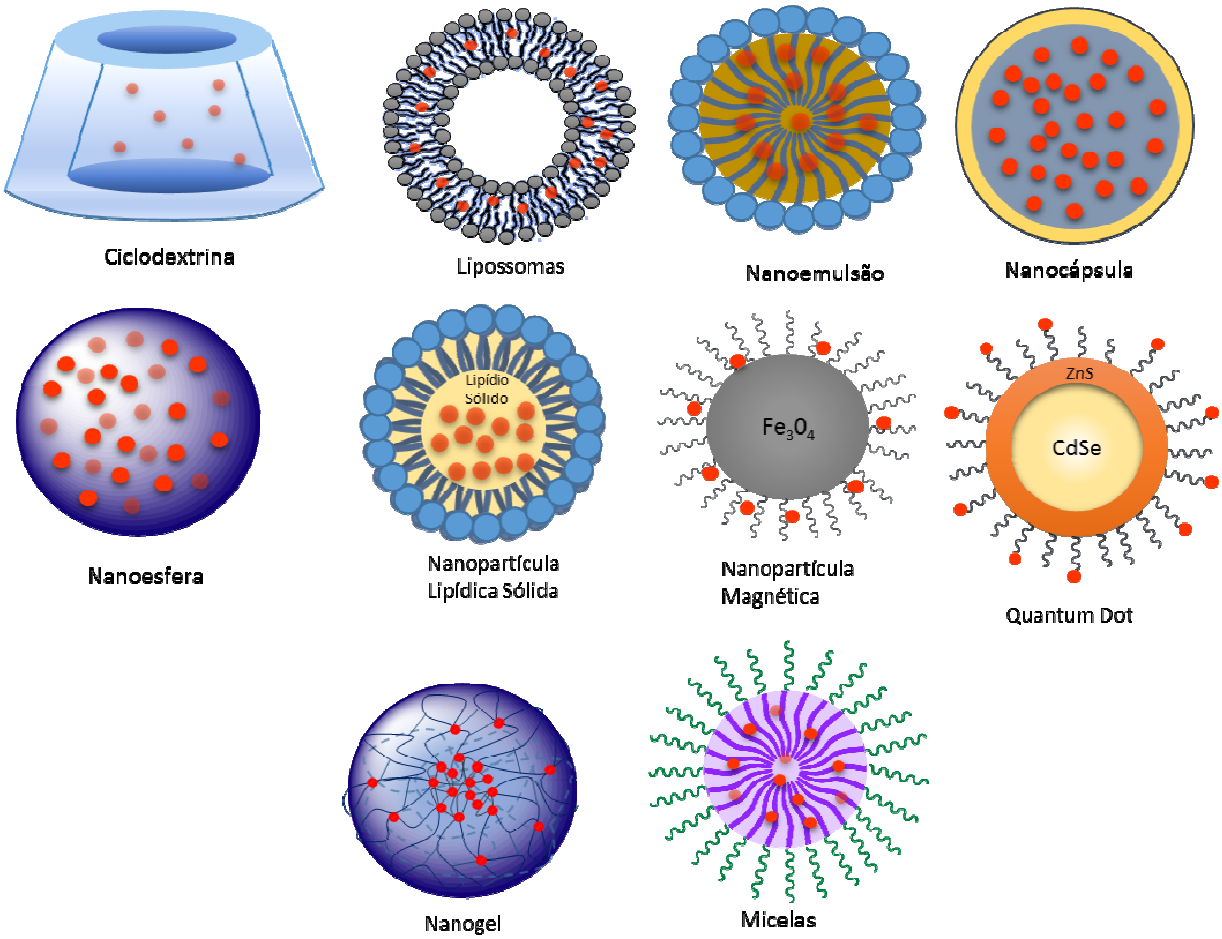
como: i) maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco; ii) melhor interação com a parede celular de bactérias e vírus; iii) não absorção do princípio ativo, nos casos em que o tratamento é localizado (ex: infecção na pele); iv) baixa toxicidade, dependendo do princípio ativo e do polímero; v) redução dos efeitos colaterais, tais como: irritação, náuseas e vômito; vi) potencialização da atividade pela união de uma ou mais drogas com um mesmo polímero; vii) aumento do conforto ao paciente; viii) atividade prolongada do princípio ativo (UHRICH et al., 1999; LANGER et al., 1990; YOSHIDA et al., 1990).

Entre as numerosas classes de materiais empregados na liberação controlada de princípios ativos, os sistemas coloidais à base de polímeros têm atraído muita atenção devido à flexibilidade dos métodos de síntese das macromoléculas, à diversidade de polímeros em termos de natureza química, propriedades e composição, e sua facilidade de funcionalização (NICOLAS et al., 2013). Dentre as diversas macromoléculas estudadas para aplicações biomédicas destacam-se tanto os polímeros naturais como os sintéticos. Quanto aos polímeros de origem biológica pode-se citar como exemplo os polissacarídeos, as proteínas, a quitina e os polihidroxialcanoatos (PHAs). Os PHAs são poliésteres de hidroxiácidos, obtidos por rota biossintética, a partir de fontes naturais. Como exemplos de PHAs têm-se o poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e seus copolímeros com hidroxivalerato (PHBHV) (SIMIONI et al., 2008). Os polímeros sintéticos mais empregados são o poli(ácido lático) (PLA) (YANG et al., 2011), poli(ácido glicólico) (PLGA) (ACHARYA et al., 2011), poli(etileno glicol) (PEG) (HUTANU et al., 2014; XIAO et al., 2011), a poli(ε-caprolactona) (PCL) (YU et al., 2012) e a poli(N-vinilcaprolactama que têm atraído grande interesse de pesquisadores recentemente (CORTEZ-LEMUS; LICEA-CLAVERIE, 2015; LIU et al., 2014).

2.1.1. Nanopartículas com potencial para aplicações na área farmacêutica

A terminologia “nanopartícula”, engloba qualquer partícula que apresente um tamanho nanométrico, independentemente de sua constituição, forma, tipos de interação e aplicações (FRANCO, 2013). No entanto de acordo com a natureza e aplicação das partículas há divergências com relação à definição da faixa de tamanho. Segundo a European Food Safety Authority (EFSA) um nanomaterial é qualquer material desenvolvido de tal modo que seja composto por partes funcionais e estruturais discretas, que possuam mais de uma dimensão e cujo tamanho seja inferior a 100 nm (FRANCO, 2013). Entretanto, esta definição mais estrita nem sempre se enquadra para descrever partículas aplicadas em ciências farmacêuticas. Fundamentalmente, certas partículas e sistemas coloidais são considerados nanopartículas embora não o sejam, por apresentarem características físico-químicas associadas ao pequeno tamanho das partículas ou por serem desenvolvidos com técnicas que permitam a produção de nanopartículas com tamanhos na ordem dos 100 nm (FRANCO, 2013). Portanto, embora para aplicações não farmacêuticas as partículas nanométricas sejam restritas a tamanhos entre 1 – 100 nm, para as ciências farmacêuticas, pode-se definir nanopartículas como sistemas coloidais, com diâmetros entre 10 e 1000 nm, que sejam por si só, biologicamente ativas, ou que tenham a capacidade de veicular fármacos (FRANCO, 2013). Considerando esta definição, estão enquadrados como nanopartículas para aplicação em sistemas de liberação de drogas as ciclodextrinas (BONNET et al., 2015; MAVRIDIS; YANNAKOPOULOU, 2015), os lipossomas (KOYNOVA; TENCHOV, 2015), as nanoemulsões (BANGIA; OM, 2015), as nanocápsulas (BAEK et al., 2015; HOFMEISTER; LANDFESTER; TADEN, 2015) e nanoesferas (GREF et al., 2012; SINGH; GARG; SHARMA, 2010), as nanopartículas lipídicas sólidas (ROSTAMI et al., 2014), as nanopartículas magnéticas (TIETZE et al., 2015; MEDEIROS et al., 2011), os *quantum dots* (BILAN et al., 2015), os nanogéis (CALÓ; KHUTORYANSKIY, 2015) e as micelas (WU et al., 2014). A Figura 2.2 apresenta um esquema de alguns destes sistemas de liberação de droga.

Figura 2.2 – Representação esquemática de sistemas particulados, aplicados em sistemas de liberação de fármacos. Esferas vermelhas representam os princípios ativos.



Fonte: Adaptado de Bonnet et al., 2015; Mavridis e Yannakopoulou, 2015; Koynova e Tenchov, 2015; Bangia e Om, 2015; Baek et al., 2015; Hofmeister, Landfester e Taden, 2015; Gref et al., 2012; Singh, Garg e Sharma, 2010; Rostami et al., 2014; Tietze et al., 2015; Medeiros et al., 2011; Bilan et al., 2015; Caló e Khutoryanskiy, 2015; Wu et al., 2014.

Dentre a gama de sistemas de liberação de drogas as micelas poliméricas formadas pela autoagregação de copolímeros em bloco anfifílicos (geralmente dibloco ou tribloco) têm atraído grande interesse no campo da liberação controlada de drogas (WU et al., 2014). Estas micelas possuem grande potencial para um efetivo controle da liberação de princípios ativos (ZHANG; KO; OH, 2012). O núcleo hidrofóbico funciona como um reservatório para a encapsulação de fármacos hidrofóbicos, proteínas ou DNA, através de ligações químicas ou interações físicas (NICOLAS et at., 2013; XIONG et al., 2011). A

região externa (casca) hidrofílica serve como proteção para o núcleo. A camada hidrofílica minimiza a adsorção de proteínas nas micelas e sua adesão celular, as micelas poliméricas têm a habilidade de escapar do sistema retículoendotelial (RES) (MIYATA; CHRISTIE; KATAOKA, 2011; BRINKHUIS et al., 2011). Além disso, as micelas poliméricas costumam apresentar diâmetros médios acima do limite de filtração pelo rim (XIONG et al., 2011). Choi et al. (2007) mostraram que nanopartículas com diâmetro hidrodinâmico inferior a 5,5 nm apresentam uma rápida e eficiente excreção renal. Segundo os autores nanopartículas com diâmetro hidrodinâmico superior a 15 nm previne esta ação. Assim, as micelas representam candidatos potenciais para a administração intravenosa e liberação controlada de diversos princípios ativos (NICOLAS et at., 2013).

As micelas poliméricas são consideradas, portanto, sistemas nanoparticulados promissores para ensaios clínicos. Já foi demonstrado que elas apresentam resultados interessantes em se tratando da liberação *in vivo* de fármacos hidrofóbicos. Copolímeros em bloco constituídos de poli(óxido de etileno) e poli(D,L ácido lático) foram capazes de formar micela com tamanho inferior a 50 nm e prolongar a circulação de testosterona *in vivo* (LAVASANIFAR; SAMUEL; KWONB, 2002).

Apesar das várias vantagens potenciais, o avanço dos métodos de preparo de formulações contendo princípios ativos encapsulados em micelas poliméricas representa, ainda, um desafio. Os principais obstáculos incluem a baixa eficiência de encapsulação dos fármacos, pouca estabilidade na corrente sanguínea, após a administração, e dificuldade no transporte através da membrana celular. Contudo, espera-se que a flexibilidade da química dos copolímeros em bloco anfifílicos torne possível desenvolver sistemas núcleo/casca (*core/shell*) que permitam atingir a exigência de liberação ideal para alcançar um máximo efeito terapêutico (XIONG et al., 2011).

Outra limitação para sistemas coloidais transportadores de drogas é sua absorção não específica pelo sistema retículoendotelial (RES). Contudo, a dimensão nanométrica das micelas e/ou o material constituinte da casca hidrofílica (por exemplo: poli(etileno glicol) (PEG)) podem prevenir o reconhecimento do transportador pelo RES, aumentando o seu tempo de

circulação na corrente sanguínea, permitindo, assim, que a droga seja administrada ao longo de períodos de tempo prolongados (MIYATA; CHISTIE; KATAOKA, 2011; BRINKHUIS et al., 2011).

O poli(etileno glicol) (PEG) vem sendo intensamente estudado para constituir a porção hidrofílica de micelas poliméricas com o objetivo de conferir estabilidade ao sistema e prolongar a liberação do fármaco *in vivo*. Dentre as principais propriedades desse polímero, destaca-se sua natureza hidrofílica, atóxica, não iônica, flexível, semicristalina, associadas ao baixo custo do material (MARK, 2004). O poli(etileno glicol) é um dos poucos polímeros aprovado pela U. S. Food and Drug Administration (FDA) para aplicações intravenosas, oral e transdérmica em humanos, que é uma consideração importante no desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas (RABANEL; HILDGEN; BANQUY, 2014). Além disso, possui uma baixa taxa de deposição de material proteico, diminuindo sua ligação às proteínas plasmáticas, agregação de eritrócitos e impedindo o reconhecimento pelo sistema imunológico. Assim, o emprego de segmentos de PEG como bloco hidrofílico na elaboração de micelas poliméricas, pode impedir que o agente ativo sofra ataques indesejáveis em meios biológicos prolongando a sua circulação *in vivo* (PRABAHARAN et al., 2009).

A eficácia e a capacidade em condições fisiológicas de micelas constituídas de copolímeros em bloco anfifílicos para liberação controlada de drogas podem ser otimizadas pela utilização de elementos sensíveis a estímulos em sua estrutura (TOPUZOGULLARI et al., 2014). A elaboração de nanotransportadores à base de polímeros sensíveis a estímulos promove a otimização da terapia médica, uma vez que esses materiais permitirão controlar a taxa de liberação do ativo do interior das nanopartículas, em concentrações terapêuticas (NA; SETHURAMAN; BAE et al., 2006), ou seja, o sistema de liberação torna-se ativo.

2.2. Polímeros biocompatíveis e biodegradáveis

Qualquer material, seja ele natural ou sintético, utilizado com o objetivo de executar, melhorar ou, até mesmo, substituir alguma função desenvolvida pelo organismo humano, pode ser chamado de “biomaterial” (HAZER; KLIÇAY; HAZER, 2012). Neste sentido, diversos materiais capazes de interagir com os sistemas biológicos, constituídos de polímeros biocompatíveis e/ou biodegradáveis, vêm sendo explorados (MEDEIROS et al., 2011). Dentre eles podem ser citados como exemplos dispositivos biomédicos (como biossensores, tubos de circulação sanguínea, sistemas de hemodiálise), materiais implantáveis (como suturas, placas, substitutos ósseos, tendões, telas ou malhas, válvulas cardíacas, lentes, dentes), órgãos artificiais (como coração, rim, fígado, pâncreas, pulmões, pele), curativos e dispositivos para a liberação de medicamentos (na forma de filmes, implantes subdérmicos ou partículas), (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Muitos biomateriais são constituídos de polímeros devido, principalmente, a biodegradabilidade ou biocompatibilidade destes materiais. (OZDIL; AYDIN, 2014). O uso desses polímeros em aplicações *in vivo* é muito vantajoso, pois eles podem ser degradados, absorvidos ou eliminados pelo organismo após a sua utilização. A degradação pode acontecer por hidrólise ou por ação enzimática (ZHANG; KOH; OH, 2013). A maioria dos polímeros biodegradáveis que vem sendo estudados são poliésteres, como o poli(ácido lático) PLA, poli(ácido glicólico) PGA, poli(ε-caprolactona) (PCL) e copolímeros dos ácidos lático e glicólico (PLGA), além de alguns heteropolissacarídeos como a quitosana (SARTORI et al., 2013).

Existem ainda, polímeros que, apesar de não serem biodegradáveis, são biocompatíveis. A biocompatibilidade foi definida pela IUPAC como a capacidade de um material manter-se em contato com um sistema vivo sem produzir um efeito adverso (VERT et al., 2012). Polímeros biocompatíveis têm demonstrado propriedades farmacocinéticas únicas, como uma melhor circulação no sangue e tempo prolongado de retenção nos tecidos. Além disso, a incorporação de agentes terapêuticos em matrizes poliméricas biocompatíveis aumenta o tempo de ação do fármaco *in vivo*, proporcionando maior

biodisponibilidade e reduzindo, portanto, sua toxicidade sistêmica (LU et al., 2007). Dentre essa classe de polímeros, destacam-se aqueles que variam sua conformação em resposta às variações das condições externas, tais como temperatura, pH, luz, força iônica, entre outros, os quais também são conhecidos como polímeros “inteligentes” (FLEIGE; QUADIR; HAAG, 2012).

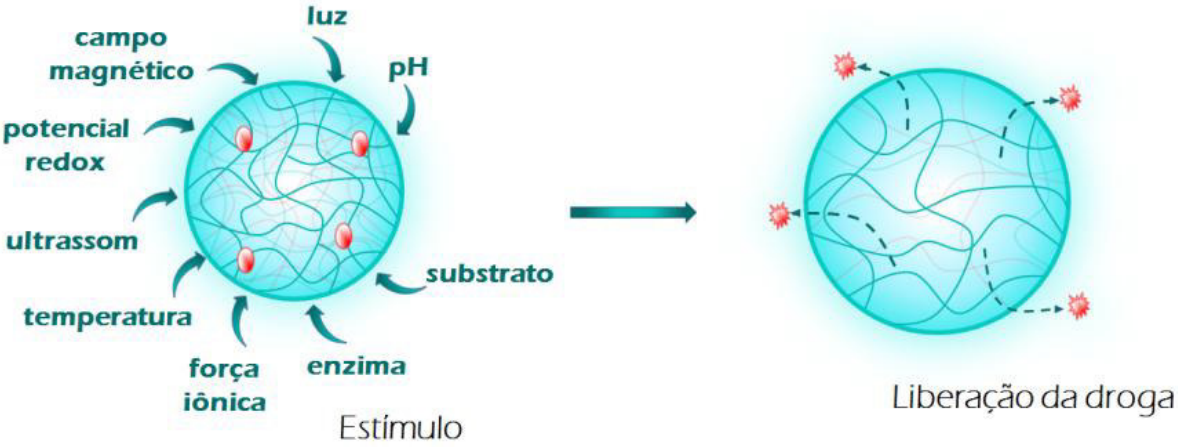
Sabe-se que a biocompatibilidade de polímeros sintéticos pode ser melhorada inserindo-se cadeias de poli(etileno glicol) à macromolécula em questão. Vihola et al. (2005) estudaram a citotoxicidade “*in vitro*” de homopolímeros de PNVCL de várias massas molares e de copolímeros de PNVCL enxertado com segmentos de poli(etileno glicol). Os ensaios de citotoxicidade foram realizados com duas culturas de células diferentes, Caco-2 intestinal e Calu-3 pulmonar como epitélio modelo para administração de fármaco oral e pulmonar, respectivamente. A citotoxicidade dos polímeros foi avaliada por métodos que indicam a viabilidade das células ou lesão à membrana celular. Os resultados mostraram que os homopolímeros de PNVCL e os copolímeros enxertados de PNVCL com PEG não apresentavam toxicidade, para os ensaios realizados a temperatura ambiente e a 37 ºC, após 3h de incubação, em todas as concentrações de polímero testadas, as quais variaram de 0,1 a 10 mg/mL.

Prabaharan et al. (2009) também reportaram estudos de biocompatibilidade de micelas de copolímeros em bloco de PNVCL e PEG. Eles concluíram que, na ausência do princípio ativo, estas micelas não induziram a citotoxicidade em células endoteliais humanas (EA.hy 926) nem em células 4T1 de câncer mamário de ratos, no intervalo de concentração de 0 - 400 µg/mL.

2.3. Polímeros sensíveis a estímulos ou "Inteligentes"

Polímeros "inteligentes" ou sensíveis a estímulos podem ser definidos como macromoléculas que sofrem uma mudança de natureza química ou física em resposta a um estímulo externo, usualmente, pH ou temperatura. Geralmente, a resposta a um estímulo externo resulta em mudanças na forma, conformação, equilíbrio hidrofílico / hidrofóbico ou solubilidade do polímero (SCHATTLING; JOCHUMA; THEATO, 2014; KONAK et al., 2007). Quando se emprega polímeros sensíveis a estímulos em sistemas carreadores de moléculas ativas, estas respostas a estímulos podem ser utilizadas para liberar ou encapsular o ativo, conforme ilustrado na Figura 2.3 (FLEIGE; QUADIR; HAAG, 2012). Algumas propriedades como solubilidade, viscosidade, transparência e condutividade podem ser controladas modificando-se a estrutura e organização das cadeias poliméricas.

Figura 2.3 – Ilustração do comportamento de um sistema sensível a estímulos para liberação controlada de drogas



Fonte: Adaptado de Fleige, Quadir e Haag (2012).

Tal comportamento, característico dos polímeros "inteligentes", é governado, essencialmente, pelos grupos funcionais presentes na estrutura química das macromoléculas. Diferentes funcionalidades respondem a diferentes estímulos e os estímulos mais comumente estudados na literatura são a temperatura, o pH, a luz, a força iônica e a transferência de elétrons

(SCHATTLING; JOCHUMA; THEATO, 2014). É possível, por exemplo, sintetizar um polímero com diferentes grupos funcionais, tornando-o sensível a mais de um estímulo simultaneamente. Neste contexto, copolímeros sensíveis à temperatura e ao pH têm sido estudados para aplicações biomédicas *in vivo*, uma vez que estes parâmetros estão diretamente relacionados com o funcionamento do corpo humano: além do organismo vivo possuir uma temperatura definida (~ 37 °C), sabe-se que este também possui regiões com diferentes pHs. Além disso, é conhecido que o pH extracelular de tumores (6,8 - 6,9) é ligeiramente mais ácido que o pH intracelular (7,2) e o pH extracelular de tecidos sadios (7,4) assim, esses polímeros sensíveis ao pH, tornam-se interessantes para aplicação em tratamentos oncológicos, por exemplo (YAN et al., 2007).

Ao se utilizar polímeros sensíveis a estímulos na forma de sistemas de revestimento, partículas ou géis, por exemplo, para o transporte e liberação controlada de fármacos, inúmeros benefícios podem ser alcançados, especialmente, quando os estímulos gerados por uma determinada doença são específicos, permitindo ao nanocarreador responder, de forma seletiva, aos “gatilhos” fornecidos por esta patologia (GANTA et al., 2008).

A temperatura é o estímulo mais estudado em sistemas poliméricos para liberação controlada de princípios ativos. A mudança de temperatura, além de ser um estímulo facilmente controlável é um importante fator fisiológico, e algumas doenças se manifestam com alterações da temperatura corporal (WU et al., 2013). Além disso, técnicas de hipertermia local podem ser facilmente empregadas com a finalidade de melhorar a capacidade de direcionamento dos carregadores sensíveis à temperatura aos tecidos (TOPUZOGULLARI et al., 2014). Polímeros sensíveis à temperatura têm potencial para outras aplicações, além de sistemas de liberação de ativos, como: separação por afinidade térmica (ANASTASE-RAVIONA et al., 2001), terapia gênica (HINRICHS et al., 1999), engenharia de tecido (JEONG; GUTOWSKA, 2002), catálise (LIU, et al 2010), engenharia de superfície (XUE et al., 2013), processamento de informações (SCHATTLING et al., 2011; SCHATTLING et al., 2014).

Polímeros termossensíveis apresentam alterações importantes em sua conformação em resposta às mudanças de temperatura. Em geral, dois tipos de

comportamento são observados; alguns polímeros solúveis em água, tais como a poli(*N*-vinilcaprolactama) e a poli(*N*-isopropilacrilamida), apresentam uma diminuição na sua solubilidade, em solução aquosa, com o aumento da temperatura, já outros como o poli(éter metil vinílico) e o poli(2-hidroxietil metacrilato), possuem comportamento oposto, ou seja, o aumento da temperatura acarreta em um aumento da solubilidade do polímero. Este comportamento é caracterizado por uma temperatura de transição genericamente denominada de Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST "Lower Critical Solution Temperature"), no primeiro caso e Temperatura Crítica Superior de Solubilização (UCST – "*Upper Critical Solution Temperature*") no segundo. Alguns exemplos de polímeros termossensíveis, que possuem LCST, são apresentados na Tabela 2.1. As unidades de repetição contêm grupos amida, hidroxila ou éter, que formam ligações de hidrogênio com a água (LIU; FRAYLICH; SAUNDERS, 2009).

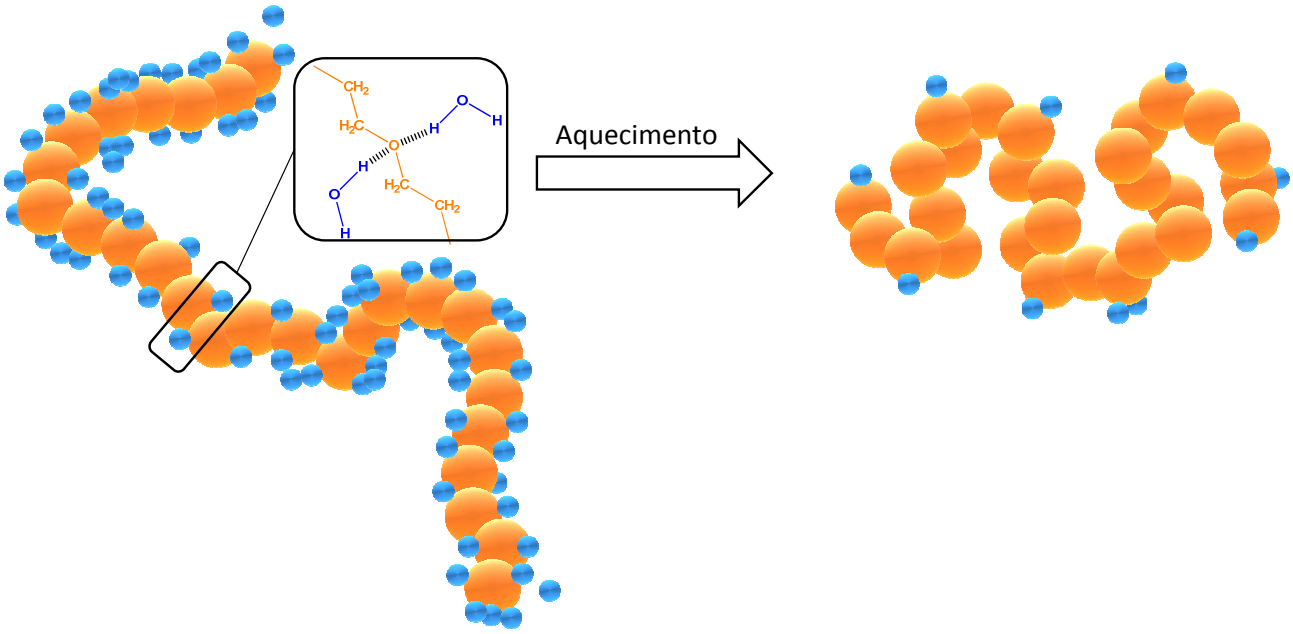
Tabela 2.1 – Exemplos de polímeros sensíveis à temperatura.

Abreviação	Polímero	LCST (°C)
PNIPAAm	Poli(N-isopropilacrilamida)	32 - 36
PNVCL	Poli(N-vinilcaprolactama)	32 - 38
PEG	Poli(etileno glicol)	100 - 180
PPO	Poli(óxido de proprileno)	10-20
MC	Metil celulose	50
EHEC	Etil (hidroxietil) celulose	65
PDMA	Poli(2-dimetilamino) etil metacrilato	50
PEOZ	Poli(2-etil-2-oxazolina)	~62
PIPOZ	Poli(2-isopropil-2-oxazolina)	~36
PEA	Poli(N-etilacrilamida)	82
PEMA	Poli(N, N-etil-metilacrilamida)	70
PNPAm	Poli(N-n-propilacrilamida)	25
PBMEAm	Poli(N, N-bis (2-metoxietil) acrilamida)	49
PMPAm	Poli(N-(3-metoxipropil) acrilamida)	>60
PEPA	Poli(etoxi propilacrilamida)	~32
HPC	Hidroxipropilcelulose	42

Fonte: Liu, Fraylich e Saunders (2009).

Em polímeros que apresentam LCST ocorre uma transição de fase devido a uma mudança conformacional das macrocadeias, onde inicialmente, encontravam-se enoveladas (*coil*) e solvatadas pelas moléculas de água, passando para uma estrutura de glóbulo compacto insolúvel como ilustrado na Figura 2.4. Este processo é reversível, ou seja, diminuindo a temperatura, para valores a baixo da LCST, o polímero retorna ao estado solúvel. A temperaturas acima da LCST a estrutura de glóbulo é entropicamente favorável, e consequentemente minimiza a energia livre do sistema. Portanto, os efeitos entrópicos dessa transição estão relacionados ao processo de solvatação do polímero e à organização das moléculas de solvente em sua vizinhança. Enquanto os efeitos entálpicos, são ocasionados pelas forças intramoleculares entre cadeias poliméricas e intermoleculares entre polímeros e molécula de solvente (HOCINE; LI, 2013).

Figura 2.4 – Representação esquemática da mudança de conformação do poli(óxido de etileno), de uma estrutura enovelada (coil) para um glóbulo compacto insolúvel. As esferas de cor laranja representam as unidades de óxido de etileno e as esferas azuis as moléculas de água.



Fonte: Adaptado de Hocine e Li (2013).

A poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) e seus copolímeros são os materiais termossensíveis mais estudados. A unidade repetida deste polímero é constituída de grupos hidrofílicos (amida) e hidrofóbicos (isopropil), e o balanço entre estes grupos determinam a sua LCST, que é, em geral, próxima à temperatura fisiológica (32 – 36 °C) (LIU; FRAYLICH; SAUNDERS, 2009). Entretanto, possuem limitações em aplicações "*in vivo*", uma vez que a hidrólise da PNIPAAm em meio ácido libera grupos aminas tóxicos (JIANG et al., 2013). Assim sendo, outro polímero termossensível e biocompatível que vem sendo amplamente estudado para fins biomédicos é a PNVCL, especialmente em sistemas de liberação de drogas na qual incluem micelas poliméricas, hidrogéis e partículas híbridas (LIU et al., 2014).

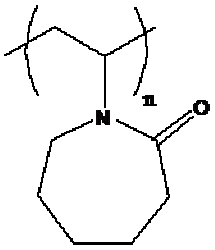
2.3.1. Propriedades termossensíveis da poli(N-vinilcaprolactama)

O crescente interesse em polímeros e copolímeros à base de PNVCL se deve principalmente: i) a sua termossensibilidade; ii) a temperatura de transição de fase próxima a temperatura do corpo humano; iii) a sua capacidade de complexação; iv) estabilidade à hidrólise e; v) sua biocompatibilidade. Todas estas características fazem da PNVCL um interessante candidato para aplicações biomédicas (LIU et al., 2014).

A presença do átomo de nitrogênio ligado diretamente ao carbono, em sua estrutura química (Figura 2.5), faz com que a PNVCL não libere grupos amida quando hidrolisada. Logo, a hidrólise desses grupos resultará apenas em grupos carboxílicos, sem a liberação de compostos aminados (JIANG et al., 2013). Além disso, esse polímero também possui LCST entre 32 e 38°C, (MAEDA; YAMAMOTO; IKEDA, 2001; YANUL et al., 2001), valores que são próximos da temperatura fisiológica, e que dependem da massa molar, da concentração em solução aquosa, e da composição química, no caso de copolímeros (SHTANKO et al., 2003). A biocompatibilidade da PNVCL, associada à sua propriedade de complexação com outras moléculas viabiliza seu uso em inúmeras aplicações na

área da bioquímica e da medicina (KOZANOGLU; OZDMEMIR; USANMAZ, 2011; MEDEIROS et al., 2011).

Figura 2.5 – Estrutura química da PNVCL.



Fonte: Liu et al. (2014).

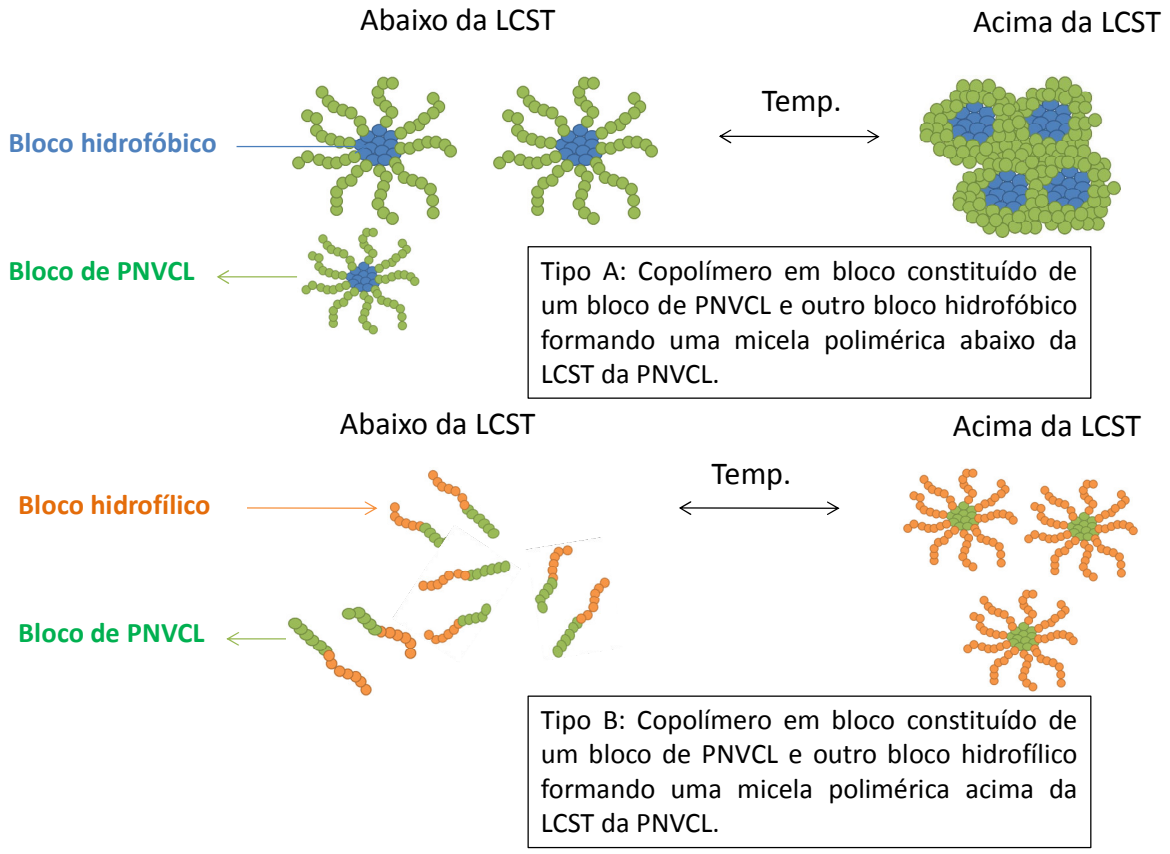
A PNVCL é composta de unidades moleculares que lhe rendem o caráter hidrofílico em temperaturas abaixo da LCST, ou seja, a PNVCL é um polímero solúvel em água, porém, coalesce neste solvente quando a solução é aquecida para valores superiores à sua LCST. Abaixo da LCST, a água é um bom solvente para a PNVCL, pois as interações polímero-solvente são mais intensas que as interações polímero-polímero. Acima desta temperatura, as interações de pontes de hidrogênio se rompem, ocorrendo dessolvatação (LIU et al., 2014; MEDEIROS et al., 2011).

Devido a estas propriedades interessantes, a PNVCL vem sendo empregada no desenvolvimento de sistemas poliméricos particulados, capazes de alterar sua propriedade anfifílica de acordo com a temperatura. Dentre esses sistemas, as micelas poliméricas, micro ou nanopartículas, micro ou nanogéis têm atraído considerável interesse nos últimos anos (KEERL; RICHTERING, 2007). Em geral, dois tipos de estruturas micelares constituídas de polímeros termossensíveis podem ser considerados, sendo que em um deles a casca é termossensível, enquanto no outro o núcleo é termossensível. A Figura 2.6 exemplifica estas estruturas (GIL; HUDSON, 2004).

A PNVCL apresenta valores de LCST próximos aos da PNIPAm (Tabela 2.1) porém o mecanismo e a termodinâmica de transição de fase são diferentes. A transição de fase da PNIPAm é do tipo II, o que significa que a LCST é independente da massa molar do polímero, enquanto a transição de fase da

PNVCL é do tipo I, a qual é governada pelo modelo clássico de Flory–Huggins, ou seja, um aumento na massa molar ou na concentração conduz a uma diminuição na temperatura de transição (LIU et al., 2014). A LCST também pode ser modulada alterando o balanço hidrofílico/hidrofóbico do polímero pela inserção de comonômeros durante a polimerização. Geralmente, a introdução de um comonômero de natureza hidrofóbica diminui a LCST enquanto que a presença de comonômeros hidrofílicos eleva a temperatura de transição (LIU et al., 2014).

Figura 2.6 – Micelas poliméricas formadas por copolímeros em bloco onde um dos blocos é a PNVCL e o outro um bloco hidrofóbico ou hidrofílico.

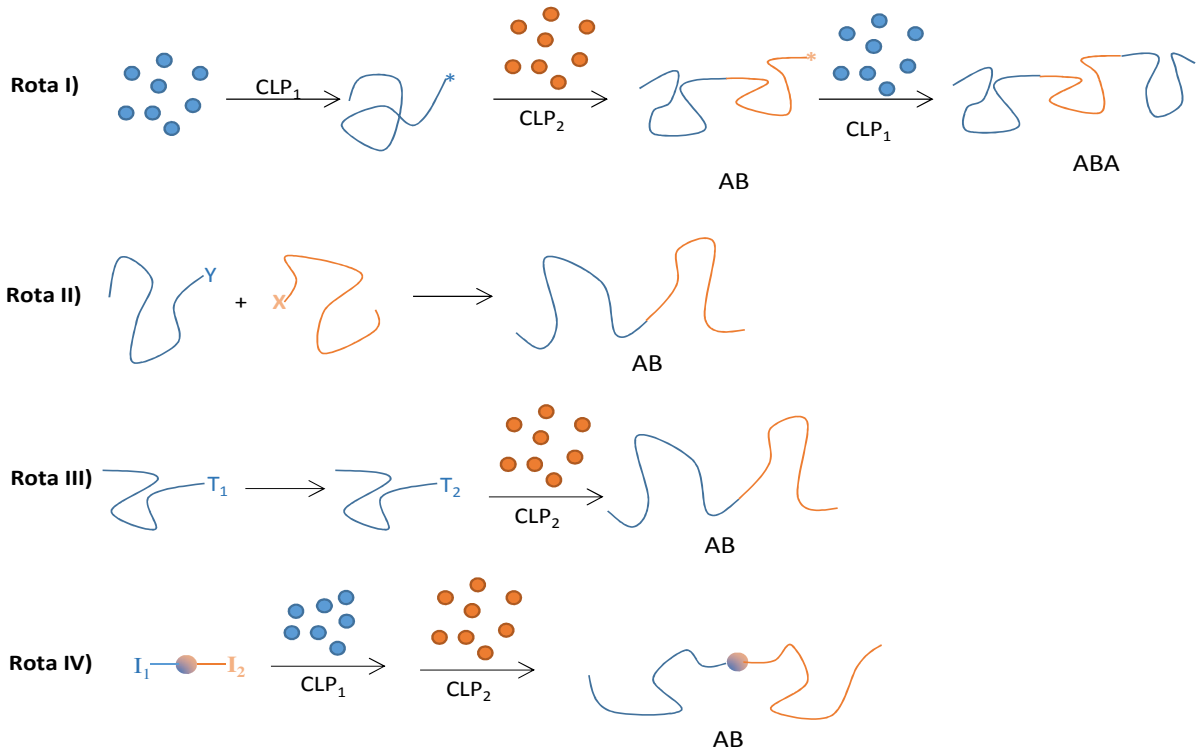


Fonte: adaptado de Gil e Hudson (2004).

2.4. Síntese de copolímeros em bloco

A maioria dos materiais poliméricos para liberação controlada de fármacos são desenvolvidos combinando-se as propriedades de duas ou mais macromoléculas diferentes, as quais podem ser obtidas por meio da síntese de copolímeros em bloco. Copolímero em bloco é um tipo de estrutura na qual dois ou mais segmentos poliméricos (homopolímeros) estão ligados covalentemente formando uma macromolécula com arranjo linear ou radial (LAZZARI; LIU; LECOMMANDOUX, 2006).

Figura 2.7 – Síntese de copolímeros em bloco (dibloco e tribloco): I) copolimerização "viva/controlada"; Adição sequencial de monômeros; II) acoplamento de cadeias lineares contendo funções diferentes (X e Y); III) mudança de mecanismo de polimerização; e IV) utilização de um iniciador bifuncional (ou "cabeça dupla"), o qual contém dois fragmentos de iniciação distintos I1 e I2. CLP1 = Polimerização "Viva/Controlada" ("Controlled/Living Polymerization") tipo 1. CLP2 = Polimerização "Viva/Controlada" tipo 2.



Fonte: Lazzari, Liu e Lecommandoux, (2006).

A Figura 2.7 apresenta alguns dos possíveis mecanismos para a obtenção de copolímeros em bloco com estruturas tipo AB (dibloco) e ABA (tribloco). Uma das alternativas é a adição sequencial de monômeros utilizando iniciadores monofuncionais, obtendo-se copolímeros de estrutura tipo AB ou ABA, ou difuncionais produzindo apenas estruturas tipo ABA (rota I). Um exemplo deste tipo de mecanismo é polimerização por transferência reversível de cadeias via adição e fragmentação (RAFT). A rota II ilustra a reação de acoplamento entre dois segmentos diferentes de homopolímeros previamente sintetizados com funções reativas adequadas na extremidade das cadeias, geralmente estas funções são ácido carboxílico, álcool, amina, etc. A rota III representa uma alteração na extremidade de um polímero pré-formado, tornando-o adequado para iniciar uma nova polimerização na presença de um segundo monômero. Por exemplo, um monômero A é sintetizado por um mecanismo de polimerização radicalar viva/controlada 1 (CLP_1), via o centro ativo T_1, em seguida este é transformado em um centro ativo T_2 no qual o monômero B pode ser sintetizado por um segundo mecanismo de polimerização radicalar viva/controlada 2 (CLP_2). A mudança do mecanismo pode ser feita por uma conversão *in situ* do centro ativo ou, após a purificação do primeiro bloco, seguido por uma modificação química do centro ativo. A rota IV ilustra o uso de iniciadores bifuncionais para síntese de copolímeros em bloco. Tais iniciadores bifuncionais ou “cabeça dupla” (“double-head”) possuem dois sítios distintos para a iniciação da polimerização dos monômeros por mecanismos diferentes. Para um caso ideal não há interferência entre os dois mecanismos.

2.4.1. Síntese de polímeros telequélicos para utilização como precursores na síntese de copolímeros em bloco

A polimerização convencional, via radicais livres, não permite a síntese de copolímeros em bloco (MATYJASZEWSKI; DAVIS, 2002). Entretanto esse método pode originar polímeros com extremidades funcionalizadas com grupos específicos (LAZZARI; LIU; LECOMMANDOUX, 2006). Esses grupos terminais

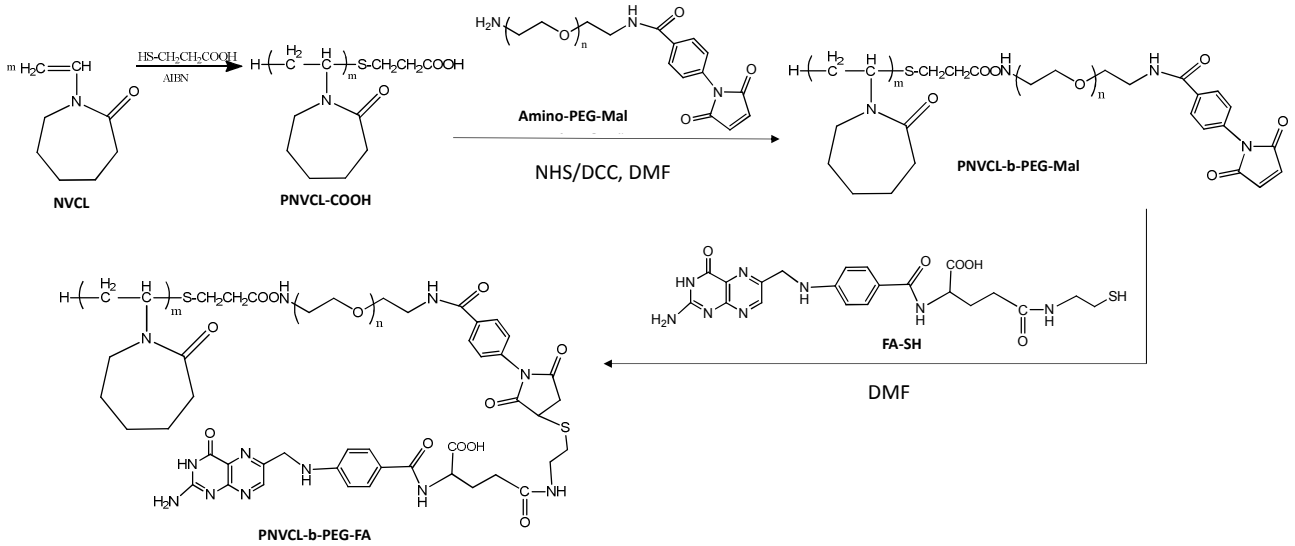
reativos podem ser inseridos na macromolécula tanto através de um iniciador químico funcional (como por exemplo, o 4,4'-azobis(4-cianopentanol) (ACP) ou o 4,4'-azobis(ácido 4-cianovalérico) (ACVA)) quanto por agente de transferência de cadeia (CTA), ou ainda pela combinação de ambos (LIU et al., 2002). Quando um polímero possui um grupo funcional em uma extremidade, este é denominado semitelequélico e quando esta função se encontra nas duas extremidades, o polímero é então denominado telequélico ou bifuncional (LIU et al., 2002; TASDELEN; KAHVECI; YAGCI, 2011).

As mercaptanas constituem uma classe de agentes de transferência de cadeia, comumente empregada na síntese de polímeros funcionais. Além de inserir uma função reativa na extremidade do polímero, elas são capazes de controlar a massa molar da macromolécula obtida por polimerização via radicais livres. Isto é possível devido à fraca ligação entre o enxofre e o hidrogênio (S-H) (BORDWELL et al., 1994) destas moléculas e à alta reatividade dos radicais gerados (WARDMAN; VON SONNTAG, 1995). O primeiro ponto explica a alta reatividade destes compostos em relação aos macroradicais em crescimento, levando a altos coeficientes de transferência de cadeia. A alta reatividade dos radicais explica o comportamento quase ideal de transferência de cadeia dos tióis, com uma grande diminuição na massa molar do polímero (HENRÍQUEZ et al., 2003).

Prabaharan et al. (2009) sintetizaram copolímeros em bloco à base de poli(N-vinilcaprolactama) e poli(etileno glicol) (PNVCL-*b*-PEG), com ácido fólico (FA) acoplado na extremidade das cadeias dos copolímeros, cuja função era direcionar as micelas formadas a partir destes copolímeros, para as células tumorais. Os autores partiram de uma polimerização radicalar da *N*-vinilcaprolactama empregando o ácido 3-mercaptopropiônico (MPA) como agente de transferência de cadeia (CTA), obtendo-se um polímero com terminação carboxila. O polímero obtido foi, posteriormente, acoplado ao PEG com terminação amina (H_2N-PEG-NH_2). O produto desta primeira etapa de reação foi colocado para reagir com o ácido fólico, também por meio de reações de acoplamento, dando origem ao copolímero PNVCL-b-PEG-FA. A LCST dos copolímeros em bloco foi de 33 ºC e micelas estáveis foram formadas acima

desta temperatura. Os autores encapsularam fluorouracil (5-FU) (empregado no tratamento de tumores) nas micelas poliméricas, as quais foram capazes de controlar a liberação do fármaco a 37ºC. A Figura 2.8 apresenta um resumo das reações realizadas para elaboração dos copolímeros de PNVCL-b-PEG-FA.

Figura 2.8 – Síntese do copolímero PNVC-b-PEG-FA.



Fonte: Prabaharan et al. (2009).

Medeiros et al. (2010) estudaram a influência do ácido 3-mercaptopropiônico (MPA), como CTA, na massa molar, na distribuição de massas molares e na cinética de polimerização da *N*-vinilcaprolactama. Os autores concluíram que um aumento na concentração do CTA leva à uma diminuição na massa molar dos polímeros finais e aumento na velocidade de polimerização, porém pouca influência foi observada na dispersidade (Đ). O uso MPA nas polimerizações levou à formação de homopolímeros de PNVCL com terminação carboxila.

As funções reativas terminais, obtidas através do uso de iniciadores ou agentes de transferência de cadeia funcionais podem ser utilizadas para a elaboração de copolímeros em bloco. Neste tipo de síntese, um grupo funcional presente em um polímero reage com outro grupo funcional de outro polímero, dando origem ao copolímero em bloco. Estes grupos funcionais geralmente são hidroxilas, aminas, grupos carboxílicos, ésteres, anidridos, azidas, alcinos, etc.

Rejinold et al., 2011 prepararam nanopartículas biodegradáveis e termossensíveis à base de quitosana-g-poli(*N*-vinilcaprolactama) para encapsulação de 5-fluorouracil. Os autores sintetizaram a PNVCL por polimerização via radicais livres, na presença do ácido 3-mercapotopropiônico com o objetivo de funcionalizar a extremidade da cadeia de PNVCL e, posteriormente, enxertaram cadeias de PNVCL na cadeia da quitosana, utilizando 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) e N-hidroxisuccinimida como agentes de acoplamento. Os autores concluíram que a liberação do fármaco foi maior na faixa de temperatura de 38-45ºC, ou seja, em temperaturas superiores à LCST do homopolímero PNVCL (32 ºC). Além disso, os autores mostraram que as partículas não apresentavam toxicidade para as células normais e cancerígenas, na concentração de 0,1 – 10 mg/mL.

2.4.2. Síntese de copolímeros em bloco via reações de acoplamento

Conforme mencionado anteriormente, um dos mecanismos mais explorados até o momento para a síntese de copolímeros em bloco é aquele que envolve reações de acoplamento entre duas cadeias poliméricas contendo diferentes funções reativas em suas extremidades (Figura 2.7, rota II). Isto pode ser obtido por várias rotas químicas e este método pode ser expandido para a preparação de copolímeros com estrutura de tri ou multiblocos utilizando-se polímeros percursores bifuncionais. Nesta metodologia de síntese é necessário que as reações sejam seletivas e quantitativas, condições, por vezes, difíceis de obter devido à incompatibilidade dos blocos que diminui a reatividade entre as funções reativas. Em outras palavras, os homopolímeros precursores podem estar presentes no produto final das sínteses, necessitando, portanto, de uma etapa de purificação para a remoção desses blocos residuais, o que, na maioria dos casos, não é uma tarefa trivial (LAZZARI; LIU; LECOMMANDOUX, 2006). A Tabela 2.2 apresenta alguns trabalhos em que são relatadas as sínteses de copolímeros em bloco, via reações de acoplamento.

A rota química mais empregada para a síntese de copolímeros em bloco, via reações de acoplamento, é a esterificação, reagindo-se a função carboxila terminal de um homopolímero e hidroxila de outra. Nesta rota química, em geral, são necessárias altas temperaturas e/ou longos tempos de reação para garantir bons rendimentos de reação. Porém, o emprego de altas temperaturas muitas vezes fica limitado, em função da baixa estabilidade dos polímeros utilizados nas reações. Assim, o emprego de catalisadores (agentes desidratantes ou agentes de acoplamento) torna-se uma ferramenta útil para a síntese de copolímeros em bloco via esterificação.

Tabela 2.2 – Síntese de copolímeros em bloco utilizando reações de acoplamento, a partir de polímeros pré-formados.

Homopolímeros		Agente de acoplamento e catalisadores		Razão Polímero:Agente Acoplamento:catalisador	Tempo Reação (h)	Temperatura (°C)	Referências
PNVCL-COOH	PEG-NH_2	DCC	NHS	1/1/1/1	36	TA	PRABAHARAN et al., 2009
PEG-COOH	PLL-OH	DCC	DMAP	1,1/1,0/1,3/0,3	48	TA	BAIMARK, 2012
mPEG-COOH	P3HT-OH	DCC	DMAP	10/1/8/0,65	48	50	EROTHU et al., 2013
PEG-OH	PLA-OH	CDI	DMAP	5/1/2/0,2	96	TA	WU; LI, 2013
PLA-COOH	PEG-OH	DCC	DMAP	1/5/1,2/0,2	24	TA	WU; LI, 2013
PLA-COOH	PEG-NH_2	DCC	NHS	1/5/2/2	24	TA	WU; LI, 2013
PEG-COOH	PCL-OH	DCC	DMAP	1,1/1,0/1,5/0,5	48	TA	GAO et al., 2014
PEG-COOH	PLGA-OH	DCC	DMAP	1/0,75/2/0,1	36	TA	WEIB; PENGA; ZOUA, 2014.

TA = Temperatura Ambiente.
Agente de acoplamento: DCC (diciclohexilcarbodiimida); NHS N,N-hidroxisuccinimida; CDI (N,N'-carbonildiimidazol;
Catalisador: DMAP (4-(dimetilamino)piridina).

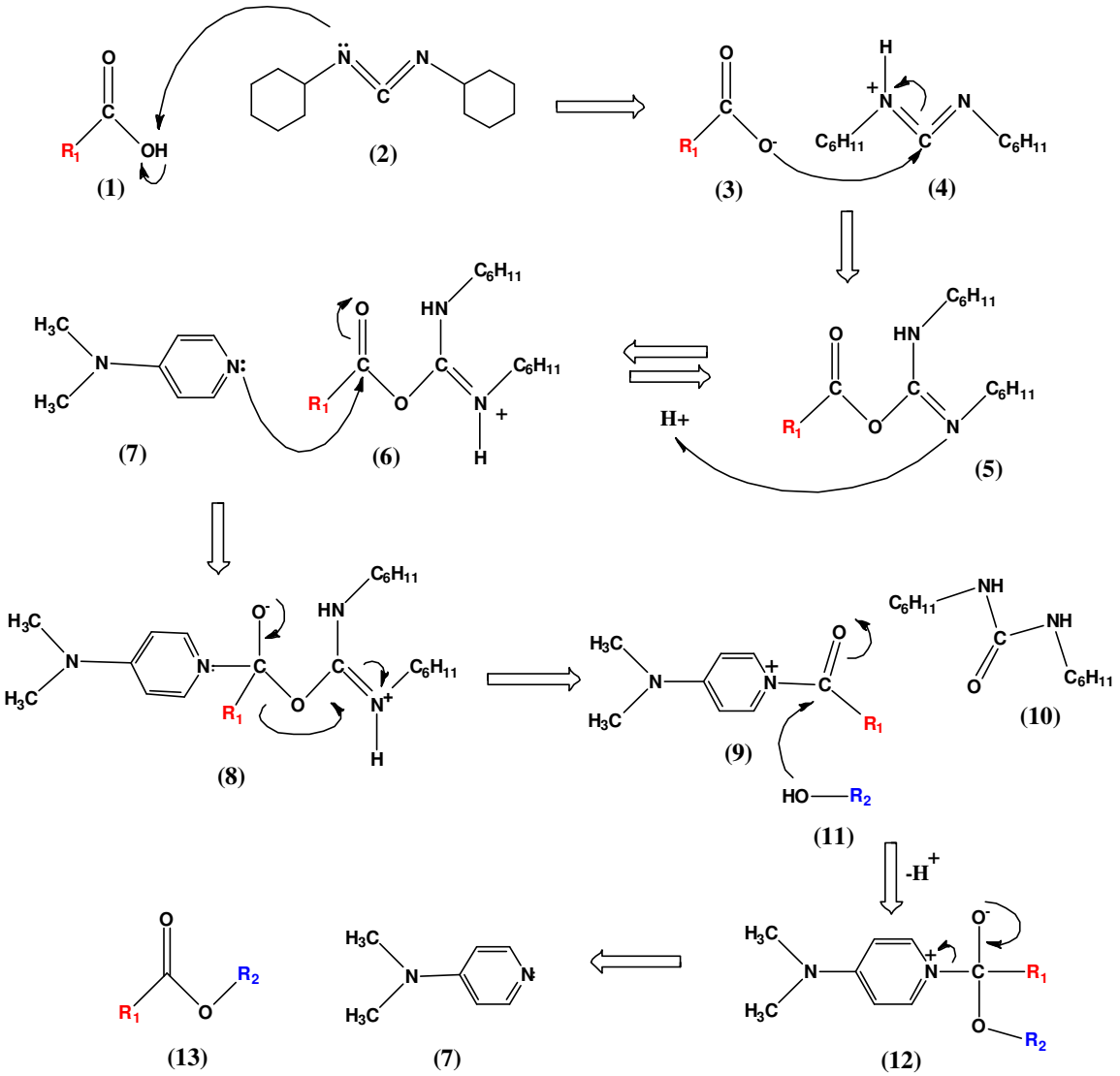
Fonte: Prabaharan et al. (2009); Baimark (2012); Erothu et al. (2013); Wu e Li (2013); Gao et al. (2014); Weib, Penga e Zoua (2014).

Existem diferentes agentes de acoplamento disponíveis, os quais são adequados para a reação entre algumas funções químicas específicas. Um dos agentes de acoplamento mais utilizados em reações de esterificação e o N, N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC). Inicialmente, este agente era limitado a fenóis e tiofenóis devido à tendência de gerar um subproduto indesejado a N-aciluréia durante o processo de esterificação. Então, Neises e Steglich[1] (1978 apud COULEMBIER; DUBOIS, 2012, p. 1672) associou este agente com a ação de

[1] NEISES, B.; STEGLICH, W. **Angewandte Chemie International Edition**. Engl. v.17, p. 522–524, 1978.

acilação catalítica do 4-dimetilaminopiridina (DMAP), e concluiu que: "... a adição de 3 – 10% em mol de DMAP acelera a esterificação ativada por DCC de ácidos carboxílicos com álcoois e tióis de tal forma que a formação de subprodutos é suprimida e ésteres são formados com bons rendimentos a temperatura ambiente." (COULEMBIER; DUBOIS, 2012). O mecanismo desta reação está representado na Figura 2.9.

Figura 2.9 – Esquema do mecanismo de acoplamento de ácidos carboxílicos com álcoois, utilizando como ativador a DCC e como catalisador a o DMAP.



Fonte: Neises e Steglich[2] (1978 apud YAN et al., 2012, Electronic Supplementary Information p. S4)

[2] NEISES, B.; STEGLICH, W. **Angewandte Chemie International Edition**. Engl. v. 17, p. 522–524, 1978.

Denota-se que a primeira etapa do processo consiste na desprotonação do ácido carboxílico (1) por um dos nitrogênios da DCC (2) originando um composto carboxilado intermediário (3). Assim, a DCC basicamente atua aumentando a eletrofilicidade da carbonila do ácido carboxílico. Posteriormente, esse intermediário (3) ataca o carbono eletrofílico da DCC que está diretamente ligado a um nitrogênio carregado positivamente (4), dando origem ao composto O-acil-isouréia (5). Em seguida, esse intermediário é protonado, podendo ser a partir de um hidrogênio pertencente à carboxila de outro ácido (1). Posteriormente, o DMAP (7) substitui o grupo O-acil-uréia como grupo abandonador, formando uma nova espécie acilante (9) e o subproduto diciclohexil-uréia (DCU) (característico da conversão da DCC) (10). Por fim, este intermediário (9) sofre um ataque nucleofílico do álcool (11), gerando o éster desejado e eliminando o catalisador (7).

Wu e Li (2013) reportaram a síntese de copolímeros em bloco, anfifílicos, de poli(ácido lático)-b-poli(etileno glicol) (PLA-b-PEG) via reações de acoplamento entre PEG e PLA utilizando diferentes catalisadores e agentes de acoplamento. Nesse estudo, empregou-se PEG dihidroxilado, PEG contendo grupos amino em ambas as extremidades da cadeia e PLA contendo diferentes grupos funcionais em suas extremidades. Os homopolímeros de PLA com diferentes funcionalidades terminais foram obtidos via polimerização por abertura de anel do respectivo monômero na presença de diferentes iniciadores, tais como, octanol, ácido acético, ácido benzóico ou água. O composto N, N'-carbonildiimidazol (CDI) foi utilizado como agente de acoplamento entre os grupos hidroxilas terminais do PLA e do PEG. Por outro lado, N, N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) e 4- dimetilaminopiridina (DMAP) foram empregados no acoplamento entre os grupos carboxílicos e hidroxilas do PLA e do PEG, respectivamente. Por fim, DCC e N-hidroxisuccinimida (NHS) foram usados para acoplar o PLA com grupos carboxílicos terminais e o PEG com grupos aminos. Todos os copolímeros em bloco pretendidos foram obtidos com sucesso e empregados, posteriormente, na elaboração de sistemas para liberação controlada de fármacos. Entretanto o conjunto DCC/DMAP apresentou a maior eficiência em relação aos outros agentes de acoplamento estudados.

Erothu et al. (2013), sintetizaram copolímeros em bloco via reações de esterificação, obtendo copolímeros constituídos de poli(3-hexiltiofeno)-b-poli(óxido de etileno) para o uso em dispositivo eletrônico-orgânico. Os autores sintetizaram o poli(3-hexiltiofeno)(P3HT), por meio das reações de Grignard (JEFFRIES; SAUVE; MCCULLOUGH, 2005) e posteriormente funcionalizaram a extremidade das cadeias poliméricas com uma hidroxila (P3HT-OH), utilizando a reação de hidroboração, empregando o agente redutor 9-borabiciclo [3.3.1] nonano. Já o PEO-COOH utilizado na síntese foi obtido pela conversão da função hidroxila terminal de um poli(óxido de etileno) em grupo carboxila, via a reação de oxidação de Jones (BEKISH, 2012). A reação de acoplamento foi conduzida a 50 ºC por 48 horas na presença do agente de acoplamento (DCC) e do catalisador (DMAP) com rendimentos entre 64 e 94%. Foram utilizadas três massas molares diferentes de PEO-COOH (620, 1200 e 1800 Da) e percebeu-se que quanto maior era a massa molar do PEO menor era o rendimento das reações de esterificação.

Weib, Penga e Zoua (2014) sintetizaram copolímeros em bloco a base de poli(L-ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA), e poli(etileno glicol) (PEG) conjugado com uma molécula de capecitabina (CAP) na parte hidrofóbica ou ácido fólico (FA) no domínio hidrofílico do copolímero via reações de acoplamento. Inicialmente, HO-PEG-COOH foi acoplado ao OH-PLGA-COOH utilizando DCC e DMAP como agente de acoplamento e catalisador, respectivamente, originando o copolímero OH-PEG-b-PLGA-COOH. Esta reação foi conduzida a temperatura ambiente por 36h. O copolímero em bloco obtido, possuindo duas funções químicas reativas foi empregado na síntese dos conjugados fármaco-polímeros, PEG-b-PLGA-CAP e FA-PEG-b-PLGA, via reações de esterificação, o primeiro utilizando o par DCC/DMAP e o segundo com o par DCC/NHS. Os autores prepararam nanopartículas pelo método de emulsão e difusão de solvente a partir de blendas de PEG-b-PLGA-CAP e FA-PEG-b-PLGA e estudaram a liberação da capecitabina. Segundo os autores estas nanopartículas possuem potencial para aplicação em sistemas de direcionamento e controle de liberação de drogas.

A principal limitação na síntese de copolímeros em bloco, via reações de acoplamento é a necessidade de uma etapa de purificação para a remoção

dos homopolímeros residuais que, geralmente, não é trivial. Sendo assim, uma rota química que vem sendo estudada intensamente nos últimos anos e que tem permitido a síntese de copolímeros em bloco com alto grau de pureza e bom controle da massa molar é a Polimerização Radicalar por Desativação Reversível (RDRP) que será descrita a seguir.

2.4.3. Polimerização Radicalar por Desativação Reversível (RDRP)

A polimerização via radicais livres é o mecanismo de polimerização mais utilizado na indústria, responsável por 50% da produção total de materiais poliméricos (MATYJASZEWSKI; DAVIS, 2002). Comparado com outras técnicas de polimerização, o processo via radicais oferece inúmeras vantagens como a obtenção de polímeros de alta massa molar, aplicabilidade em uma ampla variedade de monômeros, além de possuir aplicação em diferentes sistemas de polimerização como emulsão, suspenção, solução ou massa. Do mesmo modo, os radicais em crescimento são altamente tolerantes a diversos grupos funcionais incluindo ácidos, álcoois, aminas, epóxidos, etc., portanto monômeros funcionais podem ser polimerizados via radicais livres sem a necessidade de proteger as funções químicas (LAZZARI; LIU; LECOMMANDOUX, 2006). Entretanto, a polimerização via radicais livres convencional apresenta algumas limitações, principalmente, no controle da estrutura molecular (massa molar, distribuição de massa molar e composição e microestrutura das cadeias poliméricas) devido, principalmente, a ocorrência de reações de transferência de cadeia e de terminação, irreversíveis (LAZZARI; LIU; LECOMMANDOUX, 2006).

Para minimizar as limitações da polimerização via radicais livres, vários mecanismos alternativos foram desenvolvidos com o objetivo de controlar a arquitetura e a massa molar dos polímeros formados. Como alternativa às polimerizações radicalares convencionais, temos atualmente as polimerizações via radical livre viva/controlada (CLRP) (MOAD et al., 2012; NICOLAS et al., 2013). A União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of

Pure and Applied Chemistry, IUPAC), redefiniu o termo comumente empregado para polimerizações radicalares vivas/controladas. Segundo a IUPAC, o termo genérico mais aplicado para os principais mecanismos de polimerização via radicais livres onde se busca algum tipo de controle da reatividade do radical propagante seria a Polimerização Radicalar por Desativação Reversível (Reversible-Deactivation Radical Polymerization, RDRP) (KEDDIE, 2014; JENKINS; JONES; MOAD, 2010).

A polimerização radicalar por desativação reversível (RDRP), iniciada através da descoberta da polimerização na presença de nitróxidos (NMP), seguido pelo desenvolvimento da polimerização por transferência reversível de átomo (ATRP) e a polimerização por transferência reversível de cadeias via adição e fragmentação (RAFT) tem intensificado o uso da polimerização por radicais livres na preparação de materiais poliméricos funcionais (KEDDIE, 2014). A essência do mecanismo das RDRP está na compartimentação de radicais poliméricos propagantes entre os estados ativo e dormente através de um equilíbrio reversível de ativação de desativação (KEDDIE, 2014).

Na polimerização na presença de nitróxido (NMP) e na polimerização por transferência reversível de átomo (ATRP) o mecanismo de controle dos radicais propagantes baseia-se na terminação reversível da cadeia propagante, mediada pelo nitróxido, no caso da NMP, ou por um sal de um metal de transição, para a ATRP, no qual o equilíbrio é fortemente favorável às espécies dormentes. No mecanismo RAFT, a desativação reversível do radical propagante ocorre pela transferência de cadeia degenerativa. A etapa de transferência de cadeia foi denominada degenerativa porque o processo envolve uma troca de funcionalidade onde a única distinção entre as espécies dos dois lados do equilíbrio é a massa molar (KEDDIE et al., 2012).

A polimerização radicalar por desativação reversível tem permitido a síntese de polímeros com estruturas bem definidas, controlando a massa molar e a distribuição de massas molares, além de permitir a preparação de polímeros com arquiteturas complexas, tais como, blocos, estrelas, enxertado, microgel, dendrítico, dentre outras (MOAD; RIZZARDO; THANG, 2012). Os polímeros sintetizados através desta técnica possuem uma larga aplicação para novos ou

avançados materiais tais como surfactantes, tintas, adesivos, biomateriais, materiais aplicados à medicina e microeletrônica (XIONG et al., 2004).

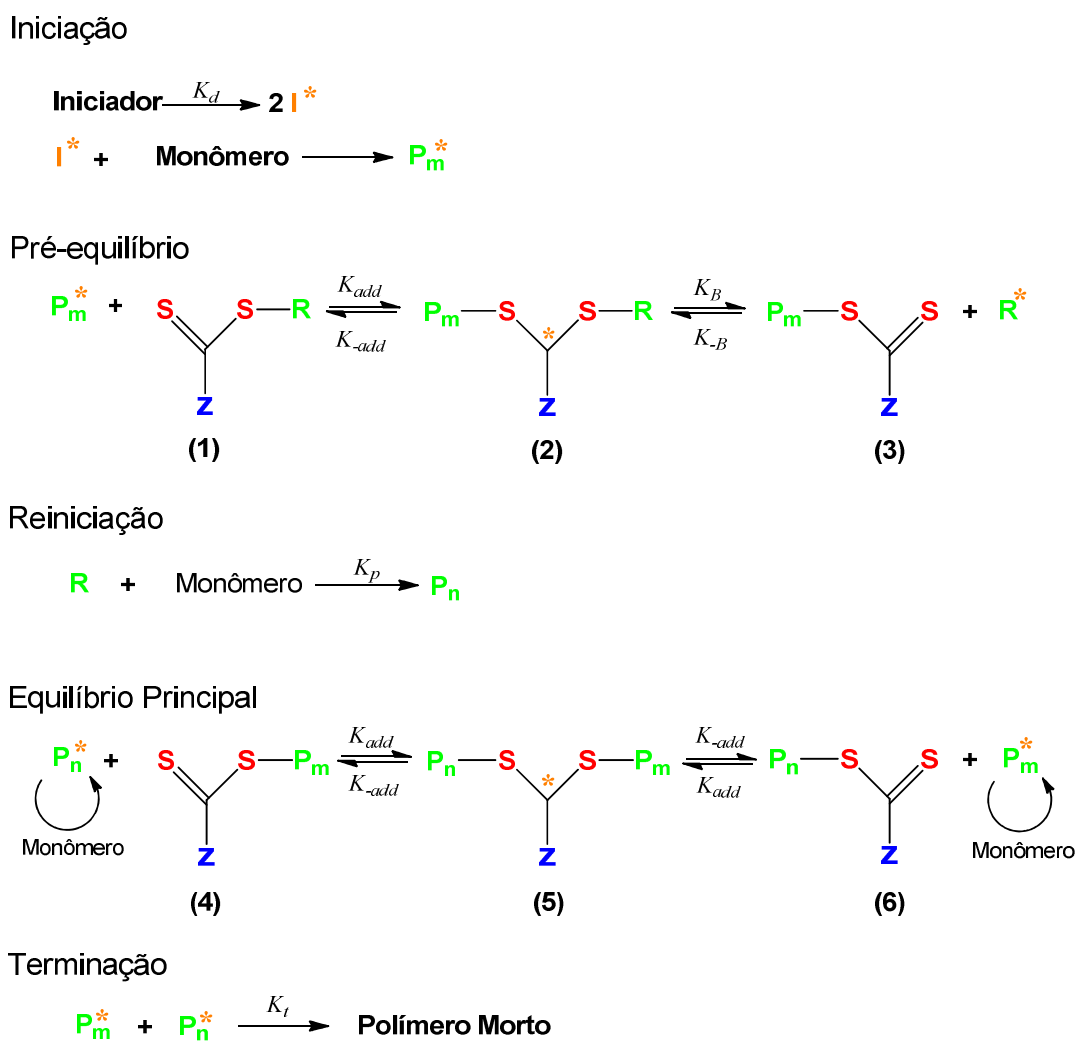
2.4.3.1. Polimerização por Transferência de Cadeias, via mecanismo de Adição-Fragmentação – RAFT

A polimerização via RAFT é sem dúvidas o mecanismo mais versátil quando comparados aos outros mecanismos envolvidos nos processos de RDRP. Esta técnica permite a polimerização de uma ampla variedade de monômeros, com diferentes grupos funcionais, por meio das técnicas de polimerização mais utilizadas como solução, massa, emulsão e suspenção (FRANCO, 2010). A característica básica do mecanismo RAFT é uma sequência de reações reversíveis de adição-fragmentação em equilíbrio, como mostrado na Figura 2.10.

No primeiro estágio da polimerização RAFT, a decomposição do iniciador e o ataque do radical formado (I*) às moléculas de monômero originam um radical propagante Pm*. Este radical se adiciona à dupla ligação enxofre-carbono do agente de transferência de cadeia (CTA) (1) para dar origem a um radical intermediário (2). Este radical intermediário (2), por sua vez, sofre uma fragmentação homolítica levando à formação de um composto tiocarbonílico polimérico (PmSC(Z)=S, 3) e um novo radical (R*). Esta primeira reação de transferência de cadeia reversível é chamada de pré-equilíbrio. A reação destes radicais de saída (R*) com novas moléculas de monômero dará origem a novos radicais propagantes (Pn*). Um rápido equilíbrio, chamado de etapa de equilíbrio principal, entre as espécies propagantes, Pm* e Pn*, e as espécies em estado de dormência, composto tiocarbonílico polimérico (4 e 6), promove a mesma probabilidade de crescimento para ambos os radicais em propagação (Pm* e Pn*), conferindo um crescimento de cadeia uniforme e baixa dispersidade para ambos os polímeros. Terminada a polimerização, a maioria das cadeias poliméricas formadas apresentará em suas extremidades os compostos

tiocarbonílicos e poderão ser isoladas na forma de material estável (MOAD; RIZZARDO; THANG, 2012; KEDDIE et al., 2012).

Figura 2.10 – Esquema de polimerização via mecanismo RAFT.



I=Iniciador; I* = radical derivado do iniciador; Pm* e Pn* = radicais poliméricos; ZC(=S)SR = agente de transferência de cadeia tipo RAFT; Z = grupo estabilizador; R = grupo de saída.

Fonte: Smith et al. (2010) e Keddie et al. (2012).

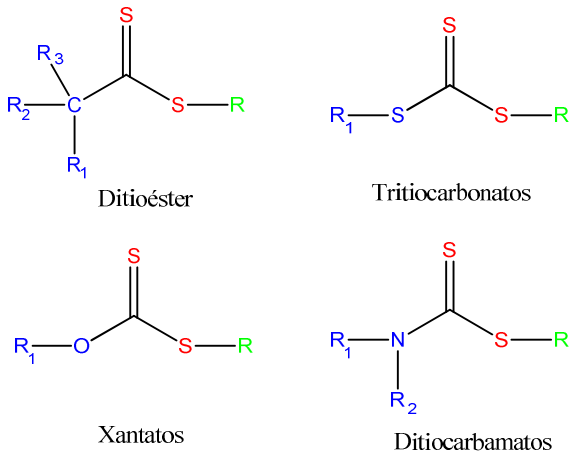
É importante salientar que no mecanismo de polimerização via RAFT pode ocorrer a formação de cadeias mortas, geradas por processos irreversíveis tais como terminação ou transferência de cadeia. A característica “viva” destas reações é conferida somente quando a massa molar do polímero formado for substancialmente inferior ao que seria formado, sob as mesmas condições, na

ausência do agente RAFT e, é tal que, o número de moléculas de polímeros terminadas com o agente RAFT excede, em muito, o número de moléculas de polímeros formadas como consequência das reações de terminação irreversíveis. Entretanto, muitas polimerizações RAFT desviam-se deste mecanismo ideal (MOAD; RIZZARDO; THANG, 2012).

Para um ótimo controle da polimerização via mecanismo RAFT é necessário escolher adequadamente o agente RAFT, para o monômero a ser polimerizado, assim como as condições de reação. Os grupos de estabilização (Z) e de saída (R), do agente de transferência de cadeia (CTA), desempenham um papel fundamental na obtenção dos resultados da polimerização, pois eles determinam a velocidade de adição e fragmentação, que controla a eficiência da transferência de cadeia e a probabilidade de inibição ou retardamento (KEDDIE et al., 2012). A reatividade de um CTA (ZC(=S)SR) é afetada tanto pelo grupo Z quanto pelo grupo R. O grupo Z regula a reatividade geral da ligação C=S para adição de radicais e afeta o tempo de vida do radical intermediário resultante, enquanto o grupo R age como um grupo de saída que deve ser capaz de reiniciar a polimerização (HILL; CARMEAN; SUMERLIN, 2015). Outros fatores devem ser considerados na escolha do agente RAFT: i) o agente RAFT deve possuir uma ligação dupla C=S reativa; ii) os radicais intermediários devem fragmentar-se rapidamente (ligação S-R fraca) e não apresentar reações secundárias; iii) o intermediário 2 (Figura 2.10) deve particionar na direção dos produtos; iv) o radical gerado (R*) deve ser eficiente na reinicialização da polimerização (MOAD; RIZZARDO; THANG, 2012).

Geralmente, os agentes de transferência de cadeia mais empregados nas polimerizações tipo RAFT são os ditioésteres ($R_1CC(=S)SR_2$), tritiocarbonatos ($R_1SC(=S)SR_2$), ditiocarbamatos ($R_1NC(=S)SR_2$) ou xantatos ($R_1OC(=S)SR_2$). A Figura 2.11 apresenta a estrutura destes agentes de transferência de cadeia.

Figura 2.11 – Representação estrutural dos agentes de transferência de cadeia empregados em reações de polimerização do tipo RAFT.



Fonte: Keddie (2014)

Quando se utiliza xantatos como agente RAFT, a terminologia MADIX é frequentemente usada para descrever o processo (NAKABAYASHI; MORI, 2013). Quando se deseja polimerizar monômeros não conjugados, como a *N*-vinilcaprolactama, *N*-vinilpirrolidona, *N*-vinilformamida etc., os agentes de controle que tem apresentado melhor resultado são aqueles pertencentes à família dos xantatos. Os monômeros não conjugados apresentam grupos pendentes doadores de elétrons devido à falta de estabilização por ressonância e geram radicais muito reativos. Assim, as reações laterais irreversíveis, como terminação ou transferência de cadeia, podem ocorrer devido à elevada reatividade dos radicais de propagação derivados destes monômeros. Para se obter um bom controle na polimerização via RAFT/MADIX destes monômeros, um delicado balanço entre as taxas de adição e fragmentação assim como com as taxas de reiniciação e propagação se faz necessário. O radical propagante de monômeros não conjugados é considerado como um péssimo grupo de saída (R*) e consequentemente, a fragmentação do radical intermediário 5 (Figura 2.10) é demasiadamente lenta quando se emprega ditioésteres como CTA, resultando em um baixo controle da polimerização. Entretanto quando se utiliza CTA do tipo xantato, este aumenta a densidade de elétrons no radical central (radicais 2 e 5 da Figura 2.10), o que pode levar a uma desestabilização do radical intermediário 5 (Figura 2.10) e, consequentemente, um aumento na taxa de fragmentação.

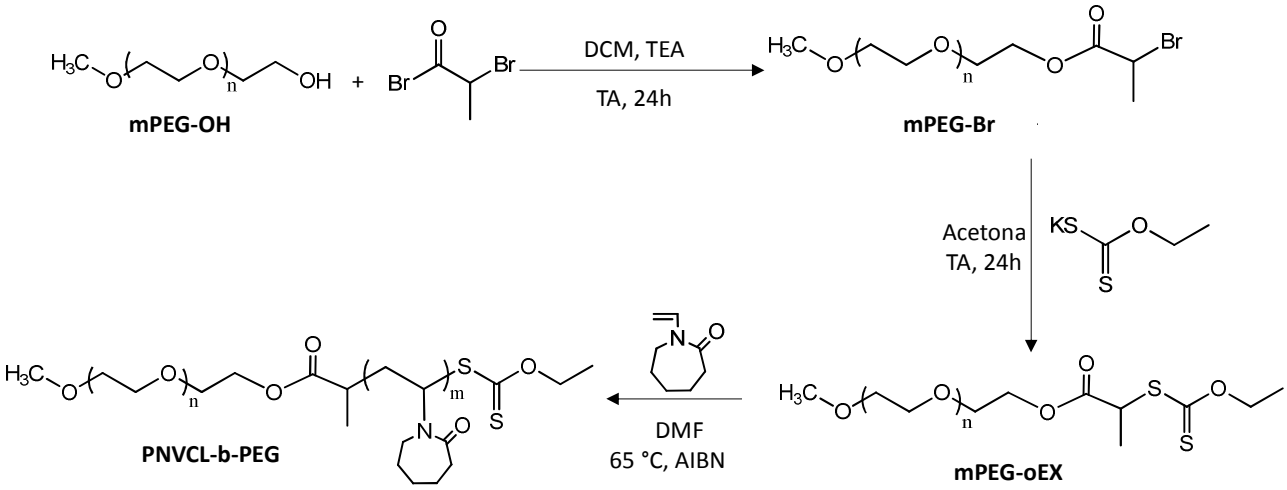
Assim, o progresso recente da polimerização radicalar por desativação reversível, particularmente pelo mecanismo RAFT/MADIX, tem permitido a síntese de polímeros bem definidos à base de monômeros não conjugados (NAKABAYASHI; MORI, 2013).

Em suma, as RDRPs são ferramentas poderosas que trouxeram uma enorme flexibilidade à obtenção de polímeros com arquiteturas definidas e que possibilitam aos pesquisadores modular as propriedades desejadas dos (co)polímeros, implicando diretamente na obtenção de materiais poliméricos para as mais diversas aplicações (CHIEFARI et al., 1998; MOAD, et al., 2005). Dentre as características de uma polimerização via RAFT, a mais significativa e inerente à obtenção de copolímeros em bloco é a retenção do agente RAFT na extremidade das cadeias poliméricas, o que permite que estas sejam empregadas como macroagentes de transferência de cadeia na polimerização RAFT de outros monômeros, possibilitando, assim, a obtenção de copolímeros em bloco (YORK et al., 2008). Macroagentes de transferência de cadeia, também podem ser obtidos pela funcionalização da extremidade das cadeias poliméricas pré-formadas, com a inserção de um grupo tiocarbonílico, via reações de substituição ou acoplamento.

Liu et al. (2014) sintetizaram copolímeros em bloco de PNVCL e PEG via polimerização RAFT/MADIX. Inicialmente, poli(etileno glicol) monohidroxilado (mPEG) foi convertido em macroagente de transferência de cadeia do tipo xantato, poli(etileno glicol)-o-etil-xantato (mPEG-oEX), via reações de modificação em duas etapas. O primeiro passo é a reação do grupo hidroxila terminal do mPEG com brometo de 2-bromopropionila na presença de trietilamina, formando mPEG-Br. Em seguida, este intermediário reage com etilxantogenato de potássio originando o macroagente de transferência de cadeia mPEG-oEX. O macroagente sintetizado foi, então, utilizado para controlar a polimerização da NVCL em DMF, a 65 ºC. Os autores estudaram o efeito da razão entre as concentrações de monômero e de macroagenteRAFT ([NVCL]/[PEG-oEX]) na taxa de conversão do monômero, assim como na massa molar dos copolímeros obtidos. O aumento na razão [monômero]/[macroagenteRAFT] aumentou significativamente a massa molar do copolímero, entretanto nenhum efeito na taxa de conversão do

monômero foi identificado, a qual variou entre 33 e 39%. A dispersidade (Đ) variou entre 1,04 e 1,06, valores típicos de uma polimerização controlada. A Figura 2.12 apresenta um esquema das reações empregadas na síntese do copolímero PEG-b-PNVCL.

Figura 2.12 – Síntese dos copolímeros em bloco, PEG-b-PNVCL, via mecanismo RAFT/MADIX.



DCM = Diclorometano; TEA = Trietilamina; DMF = Dimetilformamida. TA = Temperatura ambiente.

Fonte: Lui et al. (2014).

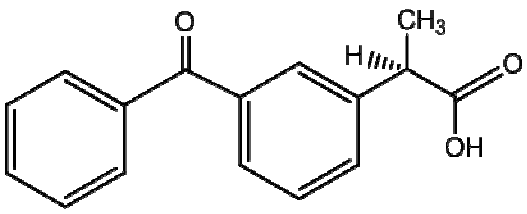
Yu, Kang e Youk (2012) reportaram a obtenção de copolímeros em bloco constituídos de PCL-b-PNVCL via polimerização RAFT/MADIX da NVCL mediada pelo macroagente de transferência de cadeia, poli(ε-caprolactona)-o-etil-xantato (PCL-oEX). Primeiramente, os autores realizaram a polimerização por abertura de anel da ε-CL utilizando butanol como iniciador. Posteriormente, os grupos hidroxilas terminais da PCL foram substituídos por átomos de bromo (PCL-Br) por meio da reação de bromação com o brometo de 2-bromopropionila. Por fim, o macroagente de transferência de cadeia, PCL-oEX, foi obtido via modificação da PCL-Br pela reação de substituição com o composto etilxantogenato de potássio. O macroagente de transferência de cadeia sintetizado, foi empregado na polimerização da N-vinilcaprolactama pelo mecanismo RAFT utilizando anisol como solvente e V-70 como iniciador. Os autores variaram a razão entre a concentração de monômero e a concentração do macroagente de controle, [monômero]/[macroagenteRAFT] e verificaram que a conversão e a massa molar do copolímero aumentaram com o aumento da razão

[monômero]/[macroagenteRAFT]. Todos os copolímeros obtidos apresentaram baixos valores de dispersidade (Đ), confirmando o sucesso da polimerização controlada da NVCL, via o mecanismo RAFT.

2.5. Encapsulação de cetoprofeno por atomização

Muitos ingredientes farmacêuticos ativos disponíveis atualmente possuem baixa solubilidade em água, o que diminui sua biodisponibilidade quando administrados via oral (CHAN et al., 2015). Atualmente, mais de 40% das novas entidades químicas (NEQ) desenvolvidas na indústria farmacêutica são praticamente insolúveis em água (MALODE et al., 2014). Estas drogas são classificadas, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), como classe II, baixa solubilidade e alta permeabilidade, ou classe IV, baixa solubilidade e baixa permeabilidade (CHAN et al., 2015). A permeabilidade refere-se à capacidade de passagem do fármaco através da parede do trato gastrointestinal humano (PARAISO, 2012). A baixa solubilidade é um problema, pois, se o composto não for dissolvido no meio biológico (disperso molecularmente) ele não poderá ser transportado efetivamente no corpo humano e, assim, não atingirá seu local de ação em uma concentração suficiente para exercer um efeito terapêutico efetivo (GUE et al., 2015).

Figura 2.13 - Estrutura química do Cetoprofeno.



Fonte: Chan et al. (2015).

Um exemplo de princípio ativo hidrofóbico é o cetoprofeno (ácido 3-benzoil-2-metilbenzenoacético), cuja estrutura está representada na Figura 2.13.

Trata-se de um anti-inflamatório não-esteroidal (AINE) derivado do grupo ácido propióico, classificado como um composto SBC classe II, muito utilizado no alívio da dor e inflamação, no tratamento de artrite reumatoide, osteoartrite e outros problemas relacionados aos músculos e articulações (CHAN et al., 2015).

Tabela 2.3 – Principais vantagens da técnica de atomização em relação a métodos convencionais, tais como emulsão/evaporação do solvente e nanoprecipitação, para produção de fármacos puros ou fármacos encapsulados em matrizes poliméricas.

Característica do processo	**Métodos de produção**	
	Atomização (Spray Drying)	**Convencionais***
Etapas do processo	Única	Múltiplas
Processo	Contínuo	Bateladas
Velocidade	Alta	Média – Baixa
Reprodutibilidade	Alta	Média
Ampliação de escala	Fácil	Difícil
Etapa de secagem final	Desnecessário	Necessário
Relação custo/benefício	Alta	Baixa
Versatilidade	Alta	Média – Baixa
Eficiência de encapsulação de drogas em carreadores poliméricos	Alta	Depende da característica da droga e do polímero

* Os métodos convencionais referem-se a emulsão/evaporação do solvente e nanoprecipitação

Fonte: Sosnik e Seremeta (2015).

Para aumentar a biodisponibilidade de drogas hidrofóbicas várias abordagens interessantes têm sido descritas na literatura, incluindo o uso de ciclodextrinas, micelas poliméricas, nanocristais, formulações na qual o medicamento está em um estado amorfo, sistemas mesoporosos, microemulsões, lipossomas, lipídios e dispersões sólidas (GUE et al., 2015). Alguns métodos descritos acima incluem a encapsulação ou a dispersão da droga em matrizes poliméricas e para isto, algumas técnicas estão disponíveis tais como: a nanoprecipitação (KALELE; NARAIN; KRISHNAN, 2009), emulsão-evaporação do solvente (PISANI et al., 2008), emulsão-difusão do solvente (MOINARD-CHECOT et al., 2006) e secagem por atomização ("*spray drying*") (SOSNIK; SEREMETA, 2015). A escolha do método adequado para a preparação das micro/nanopartículas deve ser feita considerando-se que a estabilidade da droga

não deva ser afetada durante o processo de encapsulação, além disso, a eficiência de encapsulação deve ser alta e os perfis de liberação devem ser reprodutíveis. Dentre os processos mencionados acima, o processo que vem sendo amplamente utilizado, tanto em escala laboratorial quanto industrial, é a secagem por atomização ("*spray drying*"). A secagem por atomização é um processo rápido, contínuo, reprodutivo, de baixo custo, versátil, que apresenta alta taxa de encapsulação e que pode ser utilizada mesmo para substâncias sensíveis à temperatura, sem degradá-las (SOSNIK; SEREMETA, 2015; PAUDEL et al., 2013). A Tabela 2.3 resume as principais vantagens desta técnica em comparação a outros métodos convencionais para produção de partículas de drogas puras, sem excipientes, ou drogas encapsulados em carreadores poliméricos. A preparação/produção de nano ou micropartículas através da secagem por atomização é uma alternativa atraente para a indústria farmacêutica devido à sua ampla aplicabilidade e vem sendo utilizada para reduzir a cristalinidade das drogas e, assim, aumentar a solubilidade e, consequentemente, a biodisponibilidade destes ativos em aplicações "*in vivo*" (SCHAFROTH et al., 2012).

2.5.1. Secagem por atomização ("*spray drying*")

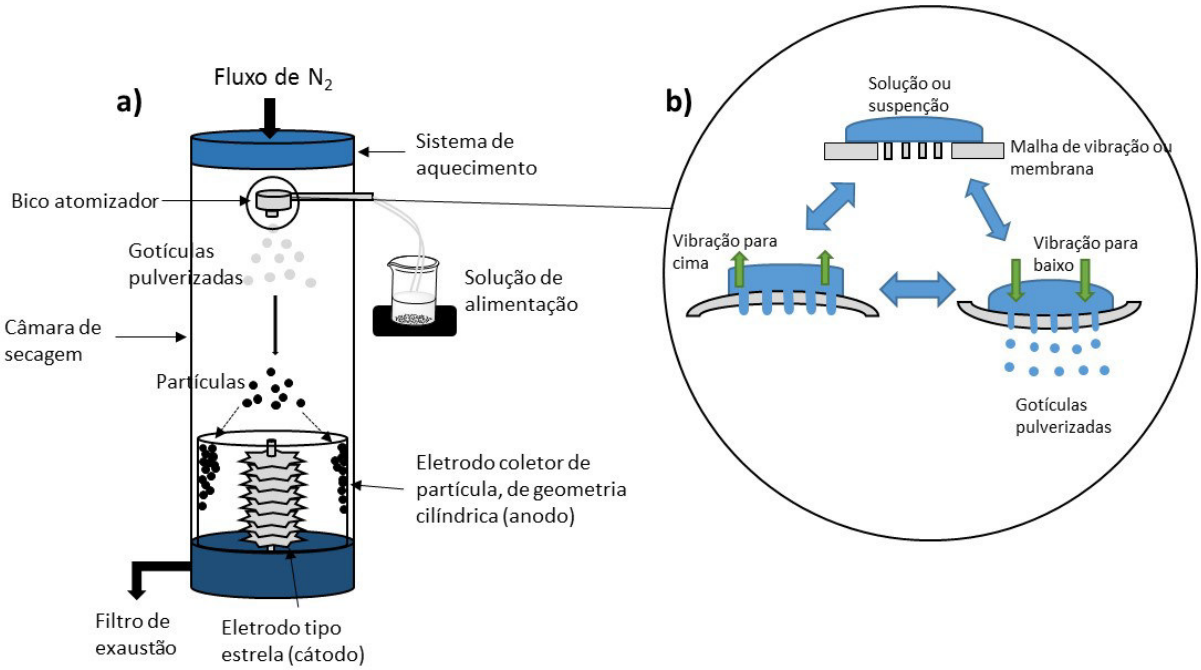
A secagem por atomização é uma técnica amplamente utilizada nas indústrias farmacêuticas, químicas, de cosméticos e de alimentos. A técnica de secagem por atomização baseia-se na transformação de um líquido (soluções, emulsões, suspensões, etc.) em um pó sólido. Este processo possui quatro etapas/ fundamentais: (i) atomização do líquido de alimentação, (ii) vaporização do solvente, (iii) formação de partículas secas e (iv) separação e coleta dos produtos secos. Primeiramente, o líquido é alimentado para dentro da câmara de secagem através de uma bomba peristáltica até o bico atomizador, que pode ser um atomizador rotatório, um bico pressurizado ou um bico de dois fluidos e, então, a atomização ocorre por energia centrífuga, pressão ou energia cinética, respectivamente. As pequenas gotículas geradas (escala micrométrica) são

submetidas a uma rápida evaporação do solvente, devido à troca de calor com o gás quente, levando à formação de partículas secas que são separadas por meio de um ciclone que as depositam em um coletor situado na parte inferior do dispositivo. O atomizador pode ser operado em duas configurações diferentes, isto é, na configuração de malha aberta ("*open loop*") e na de malha fechada ("*close loop*"). A primeira utiliza ar como gás de secagem, o qual não é recirculado, enquanto a última um gás inerte, geralmente nitrogênio, que é recirculado na câmara de secagem ao logo de todo o processo. O modo fechado é utilizado para prevenir a mistura de gases explosivos e para manipulação de substâncias sensíveis ao oxigênio. Com relação à direção do fluxo do gás de secagem existem duas possibilidades, a de co-corrente (mesma direção) ou a de contracorrente (direção oposta). No primeiro caso, o produto final fica em contato com o gás de secagem a uma temperatura mais baixa e como consequência, favorece a secagem de substâncias sensíveis à temperatura evitando sua degradação. No segundo caso, o produto é seco em contato com o gás mais quente, o que limita a secagem de materiais sensíveis ao calor, porém, proporciona uma maior eficiência térmica. Além disso, existem configurações intermediárias com fluxo misto entre co-corrente e contracorrente (SOSNIK; SEREMETA, 2015; PAUDEL et al., 2013; SCHAFROTH et al., 2012; LI et al., 2010).

Apresar das inúmeras vantagens desta tecnologia, apresentados na Tabela 2.2, quando se utiliza atomizadores convencionais, o rendimento depende fortemente da escala de trabalho. Assim, altos rendimentos são obtidos em escala industrial onde a quantidade perdida é muito pequena comparada ao volume total de produção, entretanto, em escala laboratorial o rendimento está longe do ideal ficando em torno de 20 – 70%. Geralmente, o baixo rendimento é devido à perda de produto nas paredes da câmara de secagem, sendo estas quantidades relativamente constantes. Além disso, partículas pequenas (<2 µm) usualmente passam para o gás de exaustão, devido à capacidade de separação ineficiente do ciclone. Entretanto, alguns separadores (por exemplo, sistemas de filtro) são eficazes, em ambientes industriais, para aumentar o rendimento. A produção de partículas em escala nanométrica é limitada não só pela baixa capacidade de separação do ciclone, mas também devido a forças insuficientes de atomização

do líquido (pressão e centrifugação). Este fenômeno interfere no tamanho e na distribuição de tamanho das partículas que pode ser crucial para o desenvolvimento de certos sistemas de administração de fármaco, especialmente visando à administração intravenosa (SOSNIK; SEREMETA, 2015). A Figura 2.14 mostra um esquema do processo de secagem por atomização no equipamento que foi utilizado neste projeto (Nano Spray Dryer B-90).

Figura 2.14 – Representação esquemática do processo de secagem por atomização em um atomizador "Nano Spray Dryer", da marca Büchi, modelo B-90" a) e o sistema de malha de vibração b).



Fonte: Lee et al. (2011).

O Nano Spray Dryer B-90 se diferencia dos atomizadores convencionais em três aspectos principais: na tecnologia de atomização, no fluxo do gás de secagem e na tecnologia de recuperação do produto final. Ao contrário dos atomizadores convencionais (B-190, B-191 e B-290) que utilizam atomizadores rotatórios, bico pressurizado ou bico com dois fluidos para a formação das gotículas, o novo Nano Spray Dryer B-90 utiliza a tecnologia de malha vibratória para geração das gotículas (Figura 2.14 b). Basicamente, o cristal piezoelétrico instalado na cabeça do atomizador ("spray head") é integrado a um bico atomizador ("spray cap") que contém uma fina membrana perfurada

com orifícios de tamanhos micrométricos precisos (4,0, 5,5 ou 7,0 µm). Quando o atuador piezoelétrico é acionado a uma frequência ultrassônica, 60 kHz, a malha irá vibrar para cima e para baixo, injetando milhões de gotículas de tamanhos uniformes a partir dos furos gerando os aerossóis (ARPAGAUS, 2012; LI et al., 2010).

O sistema de aquecimento deste equipamento opera sobre fluxo laminar, sendo que este é gerado pelo ar que passa através de uma espuma de metal poroso compacto que é o princípio para entrada de energia ideal e tem taxas de aquecimento de curta duração. Com um fluxo laminar, é possível alcançar uma taxa de aquecimento suave, tornando o sistema ideal para o processamento de produtos biofarmacêuticos sensíveis ao calor (ARPAGAUS, 2012; LEE et al., 2011; LI et al., 2010).

A tecnologia de recuperação do produto nos modelos anteriores, baseado no ciclone, tipicamente não recupera partículas de tamanho menor do que 2 µm. Assim, a separação das partículas no Nano Spray Dryer B-90 envolve a utilização de um precipitador eletrostático no qual o mecanismo de recolhimento é independente da massa da partícula. A recuperação de partículas pequenas, com boa eficiência, é conseguida com um novo coletor eletrostático de partículas constituído de um eletrodo tipo estrela (cátodo) e um eletrodo coletor de partículas, com geometria cilíndrica (anodo). A alta tensão em torno do coletor de partículas cria um campo eletrostático que acelera a deposição das partículas carregadas negativamente sobre a parede do eletrodo coletor de partículas (ARPAGAUS, 2012; LEE et al., 2011; LI et al., 2010). A Tabela 2.4 resume as principais diferenças entre o Nano Spray Dryer B-90 e o Mini Spray Dryer B-290.

Tabela 2.4 - Principais diferenças entre o Nano Spray Dryer B-90 e o Mini Spray Dryer B-290, desenvolvidos pela Büchi.

Características	Nano Spray Dryer B-90	Mini Spray Dryer B-290
Quantidade de amostra necessária (mL)	1 – 200	30 – 1000
Viscosidade da amostra (cP)	Máximo de 10	Máximo de 300
Dispositivo de atomização	Malha de pulverização vibratória	Bico de dois fluidos
Energia de atomização	Atuador piezoelétrico (Frequência ultrassônica)	Pneumático (Gás pressurizado)
Diâmetro da malha de pulverização / ponta do bico	4,0, 5,5 ou 7,0 µm	0,7, 1,4 ou 2,0 mm
Distribuição de tamanho das gotículas	Estreita	Larga
Sistema de aquecimento	Fluxo laminar de gás (80 – 160 l/min)	Fluxo turbulento de gás (até 580 l/min)
Temperatura de secagem	Moderado (Temperatura de entrada máxima 120 ºC)	Alta (Temperatura de entrada máxima 220 ºC)
Capacidade de evaporação (mL/h)	200	1000
Velocidade de processamento	Baixa	Alta
Intervalo de diâmetro de partícula (µm)	0,3 – 5	1 – 25
Recuperação e separação de partículas	Coletor eletrostático	Ciclone e coletor de vidro
Mecanismo de coleta	Independente da massa das partículas	Dependente da massa das partículas
Rendimento de produção (%)	Até 90	Até 70
Ampliação de escala	Difícil	Fácil

Fonte: Sosnik e Seremeta (2015).

A qualidade das partículas obtidas por atomização é o fator mais importante que é afetado consideravelmente pelas condições de operação do processo. Para se conseguir uma partícula com as exigências necessárias para uma determinada aplicação é necessário conhecer como as variáveis do processo afetam o tamanho, a distribuição de tamanho e a morfologia das partículas (MUJUMDAR, 2006). As propriedades do líquido a ser atomizado, assim como a concentração de soluto, a viscosidade, a tensão superficial, a solubilidade dos solutos, etc., juntamente com os parâmetros do processo de secagem por atomização (temperatura de entrada, de saída, taxa de fluxo de alimentação, do fluxo de gás aquecido, etc.) e as variáveis fundamentais (taxa de

evaporação, pressão de vapor, tamanho de gotículas, etc.), afetam diretamente as propriedades das partículas obtidas (tamanho, distribuição do tamanho de partícula, morfologia, área superficial, etc.) (SARRATE et al., 2015).

Broichsitter, Strehlow e Kissel (2015) elaboraram micropartículas de poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico) e sildenafila como princípio ativo. Os autores variaram algumas condições do processo de secagem por atomização utilizando o Nano Spray Dryer B-90. As variáveis estudadas foram a concentração da solução de alimentação (10, 20, 50, 70 e 100 mg/mL), o tamanho da malha do bico atomizador (4,0, 5,5 e 7,0 µm) e a taxa de atomização (25, 50, 75 e 100%). Neste trabalho foi evidenciado que tanto as características do líquido de alimentação (concentração de sólidos dissolvidos) quanto os parâmetros de processo (tamanho da malha do bico atomizador e taxa de atomização) afetam significantemente o tamanho e a distribuição de tamanho das partículas geradas. As relações entre as variáveis encontradas nestes experimentos foram: i) aumento na concentração dos solutos na solução de alimentação, de 10 para 50 mg/mL acarretou em um aumento no diâmetro das partículas (5,6 – 7,7 µm) e uma diminuição na distribuição de tamanho de partículas, estimada pelo cálculo do SPAN[3] (SPAN 2,07 – 1,76), porém um aumento adicional na concentração dos solutos levou à formação de partículas menores (até 4.6 µm) e uma diminuição na polidispersidade das partículas; ii) A aplicação do bico atomizador com diâmetro de malha maior (4 - 7 µm) levou a um aumento significativo no diâmetro das partículas (de 4,0 para 11 µm) e da distribuição de tamanho de partículas (SPAN 1,6 - 2,0); iii) Finalmente, reduções sucessivas da taxa de atomização de 100 para 25% levou a uma diminuição moderada no diâmetro de partícula obtidas de 7,7 – 5,3 µm e um aumento da distribuição de tamanho (SPAN 1,8 – 2,1). O tamanho das partículas também influenciou a taxa de liberação *in vitro* do ativo, sendo que a maior taxa de liberação foi observada para a formulação com menor diâmetro de partícula, as quais foram obtidas com malha de atomização de 4 µm.

---

[3] O SPAN foi determinado à partir dos dados de DLS, utilizando a equação: SPAN = $(d_{90\%} - d_{10\%})/d_{50\%}$.
Onde, $d_{90\%}$, $d_{50\%}$, $d_{10\%}$ são os diâmetros médios correspondentes a 90, 50 e 10% da distribuição acumulativa.

Durli et al. (2014) estudaram a influência de alguns solventes e surfactantes nas propriedades das partículas obtidas por atomização utilizando o Nano Spray Dryer B-90. Os autores estudaram três tipos de solventes, acetona, etanol e 2-propanol e três surfactantes diferentes, sendo um aniônico (Lauril sulfato de sódio), um catiônico (cloreto de cetil trimetilamônio) e um não iônico (Poloxamer 188) e utilizaram a dexametasona como droga hidrofóbica. Os autores concluíram que o rendimento foi maior para soluções de maior tensão superficial e baixa viscosidade. Considerando a viscosidade, as soluções mais viscosas (2-propanol) foram secas mais lentamente e apresentaram um rendimento baixo, enquanto as soluções menos viscosas (acetona) secaram rapidamente e o rendimento aumentou. Com relação aos surfactantes empregados, observou-se que os rendimentos foram maiores para os surfactantes iônicos (tanto o catiônico quanto o aniônico), devido a maior aderência das partículas tensoativas carregadas sobre o coletor eletrostático de partículas, evitando a sua perda na corrente de ar e a deposição subsequente sobre o filtro de saída.

Oliveira et al. (2013) também estudaram a influência das propriedades das soluções de alimentação tais como viscosidade, condutividade, e tensão superficial sobre a distribuição de tamanho de partículas, área superficial específica e aspectos morfológicos. Os autores utilizaram soluções aquosas de diferentes polímeros para formar as matrizes de encapsulação (goma arábica, goma de castanha de caju, alginato de sódio, carboximetilcelulose, na forma de sal de sódio e Eudragit RS100) e empregaram a vitamina B12 como modelo de droga hidrofílica. Um estudo comparativo entre o sistema de atomização convencional (Mini Spray Dryer B-190) e o de malha vibratória (Nano Spray Dryer B-90) também foi realizado. Os autores concluíram que a maior limitação do sistema de malha vibratória do Nano Spray Dryer B-90, é o bombeamento e a atomização de soluções de alimentação de alta viscosidade. Os autores mostraram que, mesmo aumentando o tamanho da malha do bico atomizador de 4 para 7 µm não foi possível atomizar soluções com viscosidade acima de 10 cP. A atomização de soluções diluídas favoreceu a produção de partículas de dimensões nanométricas apesar de efeitos secundários, não discutido pelos autores, diminuírem de maneira significativa a produtividade. As micrografias de

MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) revelaram uma heterogeneidade na morfologia e no tamanho das partículas obtidas e também foi possível identificar alguns aglomerados que, segundo os autores, são características inerentes ao processo de secagem por atomização. A comparação entre duas amostras obtidas pelos dois atomizadores (B-190 e B-90) revelou uma diminuição no tamanho das partículas, preparadas no Nano Spray Dryer B-90, o que aumentou a área superficial específica e isto contribuiu para acelerar a taxa de liberação da droga nos ensaios *in vitro*.

Chan et al. (2015) prepararam dispersões sólidas de cetoprofeno em matrizes hidrofílicas com o objetivo de aumentar a taxa de dissolução do ativo. Neste trabalho foram estudadas três matrizes poliméricas hidrossolúveis: a poli(vinilpirrolidona) (PVP), poli(vinilpirrolidona-co-acetato de vinila) (PVPVA) e o poli(álcool vinílico) (PVA). O polímero e o ativo foram solubilizados em uma mistura de água e etanol (50%, v/v) e atomizados utilizando um mini Spray Dryer, marca Büchi, modelo B-290. O rendimento das atomizações variou entre 40 e 50%. Os autores concluíram que foi possível encapsular o cetoprofeno nas matrizes poliméricas propostas e que, o ativo, apresentou características cristalinas diferentes, de acordo com o polímero utilizado. Quando se utilizou o PVA como matriz polimérica o cetoprofeno apresentou características de material semicristalino, as quais foram identificadas pelas técnicas de DRX, FTIR e DSC, enquanto nas demais matrizes (PVP e PVPVA) o cetoprofeno apresentou características de um material amorfo. Os ensaios de liberação *in vitro* mostraram que a maior taxa de dissolução foi obtida com o cetoprofeno semicristalino, encapsulado na matriz de PVA, resultado que não era esperado. Segundo os autores, este resultado se justifica pela baixa interação entre o cetoprofeno e o PVA, a qual favoreceu a liberação da droga no meio de dissolução. Os autores inferiram que a amorfização completa do cetoprofeno e do sistema droga/polímero não garantem um aumento na taxa de dissolução da droga e que a interação droga/polímero é um fator fundamental que também modula a cinética de liberação *in vitro* do cetoprofeno.

A liberação acelerada de cetoprofeno a partir de matrizes poliméricas também foi reportada por Gue et al. (2013). Os autores elaboraram matrizes

poliméricas contendo de 10 a 50% de cetoprofeno por dois métodos diferentes, extrusão e secagem por atomização. Eudragit® E, poli(vinilpirrolidona) (PVP), poli(vinilpirrolidona-co-acetato de vinila) (PVPVA) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) foram escolhidas para formar as matrizes. Foram preparadas misturas binárias (droga-Eudragit®E) ou ternárias (droga-Eudragit® E-PVP, droga-Eudragit® E-PVPVA e droga-Eudragit® E-HPMC). Nas atomizações, as misturas foram diluídas em uma solução etanol:água (85:15, v/v) e atomizadas utilizando o "Mini Spray Dryer", B-290. Os autores compararam os perfis de liberação da droga encapsulada na matriz polimérica, da droga pura, utilizada para os ensaios de encapsulação, e de um cetoprofeno comercial (Profenid®). Houve uma redução total da cristalinidade do cetoprofeno nas matrizes poliméricas após as atomizações, a qual foi identificada utilizando as técnicas de DRX, FTIR e DSC. Em todos os casos a taxa de dissolução do cetoprofeno encapsulado nas matrizes poliméricas foi maior do que a da droga pura e do produto comercial. De acordo com os autores, mais importante do que a composição do sistema, é a estrutura interna que pode afetar significativamente a cinética de liberação do cetoprofeno resultante. A mistura ternária de cetoprofeno-Eudragit® E-HPMC, obtida por atomização, levou à formação de uma distribuição mais homogênea de HPMC comparado com a obtida por extrusão. Esta distribuição de HPMC mais homogênea resultou em um impedimento mais acentuado da difusão de água e do fármaco levando, assim, a uma diminuição da cinética de liberação do fármaco pelas partículas atomizadas, em comparação com às extrudadas de mesma composição. Este efeito de homogeneidade/heterogeneidade, no caso da blenda contendo HPMC, sobrepôs o efeito do tamanho das partículas. As partículas obtidas por atomização possuem maior área superficial exposta ao meio de liberação e, ainda assim, apresentou menor taxa de liberação do que as extrudadas. As partículas obtidas por atomização apresentaram grandes aglomerados e alta heterogeneidade na morfologia e no tamanho.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Reagentes e solventes

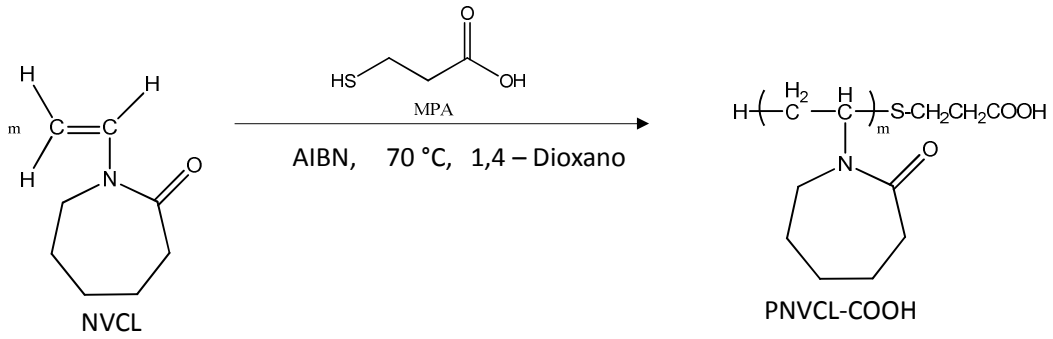
O monômero *N*-Vinilcaprolactama (NVCL, 99%, gentilmente cedida pela Basf), foi purificado por destilação a vácuo na temperatura de 96 °C. O iniciador 2,2'-azo-bis-isobutironitrila (AIBN, 98%, Sigma-Aldrich) foi purificado por recristalização em etanol absoluto e secagem sob vácuo durante 11 horas a temperatura ambiente. O agente de transferência de cadeia (CTA), ácido 3-mercaptopropiônico (MPA, 99%, Sigma-Aldrich), foi utilizado como recebido. Poli(etileno glicol) monohidroxilado (mPEG, $\overline{M_n}$ = 2000 e 5000 g/mol, Fluka), Cetoprofeno (99%, gentilmente cedido pela Sanofi-Brasil), 4-dimetilamino piridina (DMAP, 99%, Sigma-Aldrich), diciclo-hexilcarbodiimida (DCC, 99%, Fluka), isopropanol (99%, Synth), éter etílico (99%, Synth), n-hexano (PA, Vetec), ácido clorídrico PA (37%, Synth), hidróxido de sódio (98%, Synth), cloreto de sódio (99%, Synth), clorofórmio (PA, Synth), diclorometano (PA, Synth), piridina (99%, Synth) também foram utilizados como recebidos. O solvente 1,4-dioxano foi previamente seco na presença de hidreto de lítio e alumínio ($AlLiH_4$) por 30 minutos e posteriormente destilado, ainda na presença deste hidreto, para remoção da água. Clorofórmio deuterado ($CDCl_3$, 100%, Sigma-Aldrich) foi utilizado como solvente para as análises de ressonância magnética nuclear de próton (RMN ^1H), sem purificação prévia. Tetrahidrofurano (THF, grau HPLC, Aldrich) foi filtrado e desgaseificado em banho de ultrassom antes de ser empregado como solvente nas análises de cromatografia de permeação em gel (GPC). Água ultrapura foi utilizada nos processos de purificação dos polímeros.

3.2. Métodos

3.2.1. Síntese da poli(*N*-vinilcaprolactama) com grupos carboxílicos terminais (PNVCL-COOH)

Para funcionalizar a extremidade dos polímeros de *N*-vinilcaprolactama, as polimerizações foram realizadas na presença do ácido 3-mercaptopropiônico (MPA), como agente de transferência de cadeia (CTA), de acordo com o esquema apresentado na Figura 3.1.

Figura 3.1 – Esquema da síntese da PNVCL com terminação carboxila por polimerização via radicais livres em solução, utilizando ácido 3-mercaptopropiônico como agente de transferência de cadeia (CTA).



Fonte: Prabaharan et al. (2009).

Duas sínteses foram conduzidas, via radicais livres em solução, de acordo com a metodologia descrita por Medeiros et al. (2010), utilizando diferentes razões molares CTA/NVCL, visando obter polímeros com diferentes massas molares. Todas as reações foram realizadas a 70 °C, em um reator encamisado com capacidade para 250 mL, sob atmosfera de nitrogênio, e agitação magnética.

Primeiramente o reator foi carregado com a NVCL e o CTA. Em seguida, foi adicionado aproximadamente 75% do volume total de solvente e

purgou-se o sistema com nitrogênio durante 20 minutos. Enquanto isso, o iniciador (AIBN) foi pesado separadamente e solubilizado nos 25% restantes do volume total de solvente e purgado com nitrogênio por 20 minutos. Quando a temperatura do reator atingiu 70 °C, a solução de iniciador foi adicionada ao meio reacional, utilizando-se uma seringa. As formulações e condições experimentais empregadas nas sínteses estão apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Condições experimentais empregadas nas sínteses da PNVCL com terminação carboxila, utilizando o ácido 3-mercaptopropiônico como CTA.

Reação	Quantidades (g)			Razão [CTA]/[NVCL][a]	Solvente (mL)	Temperatura (°C)	Tempo de reação (min)
	NVCL	AIBN	CTA				
S1	32,4657	0,3834	2,4791	0,100	130[b]	70	300
S2	32,4657	0,3834	1,2396	0,050	130[b]	70	300

[a] razão molar de CTA em relação ao monômero; [b] solvente = 1,4-dioxano

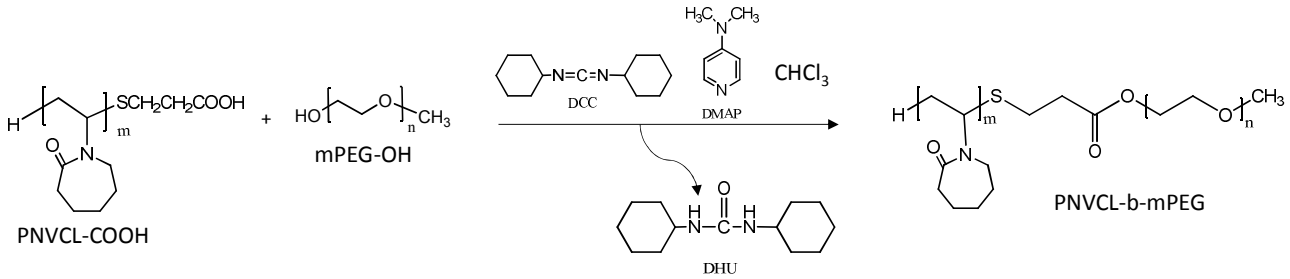
Fonte: Próprio autor.

Após as sínteses, os polímeros foram purificados adicionando-se, gota a gota, todo o conteúdo do meio reacional, em 800 mL de água a 45 °C (acima da LCST), sob agitação magnética. Após a precipitação das macrocadeias, a água foi retirada com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. Em seguida, os polímeros foram solubilizados, novamente, em 100 mL de água destilada gelada e a solução foi gotejada em 800 mL de água a 45 °C. Esse procedimento foi repetido uma terceira vez e, finalmente, os polímeros foram secos em estufa a vácuo a 45 °C até peso constante.

3.2.2. Síntese dos copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-mPEG, via reações de acoplamento

As sínteses dos copolímeros em bloco PNVCL-*b*-mPEG, via reações de acoplamento (esterificação) foram realizadas empregando os homopolímeros de PNVCL-COOH, obtidos anteriormente, e o poli(etileno glicol) monohidroxilado (mPEG-OH) comercial de 2000 e 5000 g/mol. O conjunto diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) e 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) foi empregado como agente de acoplamento e catalisador, respectivamente. A Figura 3.2 ilustra o esquema geral das reações envolvidas nessa etapa. O mecanismo detalhado foi demonstrado, anteriormente, na Figura 2.9. A Tabela 3.2 apresenta as formulações utilizadas nas sínteses empregando a PNVCL-COOH, obtida na síntese S1 e o PEG-OH, com massa molar (*Mn*) igual a 2000 g mol^{-1}.

Figura 3.2 – Esquema da reação de acoplamento da PNVCL-COOH com o mPEG-OH utilizando DCC como agente de acoplamento e DMAP como catalisador.



Fonte: Próprio autor

Quantidades apropriadas de mPEG-OH e DMAP, de acordo com a Tabela 3.2, foram pesadas em um balão volumétrico de 125 mL e solubilizadas em 30 mL de clorofórmio. A PNVCL-COOH e o DCC foram pesados separadamente e, após completa solubilização em 30 mL de clorofórmio, adicionados à solução de mPEG-OH, durante uma hora, à velocidade de 0,5 mL/min, utilizando-se uma bomba dosadora. Durante a adição da segunda solução, o meio reacional foi purgado com nitrogênio gasoso.

Tabela 3.2 - Condições experimentais utilizadas nas sínteses dos copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-mPEG, através de reações de acoplamento da PNVCL-COOH (produto da reação S1) com o m-PEG-OH (com massa molar numérica média, *Mn*, igual a 2000 g/mol).

Reação	Quantidades (g)				Relação [COOH]:[OH]:[DCC]:[DMAP] (mol)	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)
	PNVCL-COOH*	mPEG-OH**	DCC	DMAP			
B1	1,0000	0,3098	0,0668	0,0040	1:1:2:0,2	24	TA
B2	1,0000	0,3098	0,0668	0,0040	1:1:2:0,2	48	TA
B3	1,0000	0,3098	0,0668	0,0040	1:1:2:0,2	24	50
B4	1,0000	0,3098	0,0668	0,0040	1:1:2:0,2	48	50
B5	1,0000	0,3872	0,0668	0,0040	0,75:1:2:0,2	24	TA
B6	1,0000	0,3872	0,0668	0,0040	0,75:1:2:0,2	48	TA
B7	1,0000	0,3872	0,0668	0,0040	0,75:1:2:0,2	24	50
B8	1,0000	0,3872	0,0668	0,0040	0,75:1:2:0,2	48	50
B9	1,0000	0,2323	0,0668	0,0040	1,25:1:2:0,2	24	TA
B10	1,0000	0,2323	0,0668	0,0040	1,25:1:2:0,2	48	TA
B11	1,0000	0,2323	0,0668	0,0040	1,25:1:2:0,2	24	50
B12	1,0000	0,2323	0,0668	0,0040	1,25:1:2:0,2	48	50

* A massa foi estipulada a partir dos dados da dosagem de grupos carboxílicos, obtidos por titulação. ** Massa determinada a partir dos dados de concentração de grupos hidroxilas, informada pelo fornecedor. TA = Temperatura Ambiente;

Fonte: Próprio autor.

Ao final das reações, os copolímeros em bloco PNVCL-*b*-mPEG foram purificados em n-hexano gelado de acordo com a seguinte metodologia: inicialmente a solução polimérica foi filtrada para remoção do diciclohexil-uréia (DHU) e posteriormente o volume de solução foi reduzido até aproximadamente 10 mL, utilizando-se um evaporador rotativo. A solução polimérica foi, então, gotejada em 100 mL de *n*-hexano gelado, em banho de gelo, sobre agitação magnética. O precipitado formado foi separado do sobrenadante por filtração a vácuo e, em seguida, foi solubilizado, novamente, em 10 mL de clorofórmio e precipitado em n-hexano. Este procedimento foi repetido duas vezes. Em seguida os polímeros foram secos em estufa a vácuo na temperatura de 45 °C até peso constante.

Tabela 3.3 – Condições experimentais utilizadas nas sínteses dos copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-mPEG, com diferentes massas molares.

Reação	*Mn* (g/mol)		Quantidades (g)			
	PNVCL-COOH	mPEG-OH	PNVCL-COOH*	mPEG-OH**	DCC	DMAP
B13	5516	2423	2,0000	0,4646	0,1312	0,0078
B14	5516	7871	2,0000	1,1657	0,1312	0,0078
B15	6492	2423	2,0000	0,2142	0,0605	0,0036
B16	6492	7871	2,0000	0,5373	0,0605	0,0036

* A massa foi estipulada a partir dos dados da dosagem de grupos carboxílicos, obtidos por titulação.
** Massa determinada a partir dos dados de concentração de grupos hidroxilas, fornecido pelo fabricante.
Condições fixas: relação [COOH]:[OH]:[DCC]:[DMAP] (mol) = 0,75:1:2:0,2; tempo e temperatura de reação 48h e 50°C, respectivamente.
P2 = mPEG-OH 2000 g/mol; P5= mPEG-OH 5000 g/mol.

Fonte: Próprio autor.

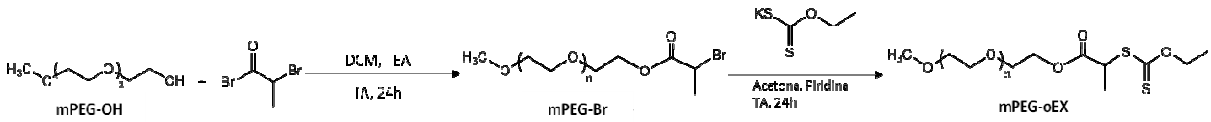
Após a caracterização dos copolímeros verificou-se que as melhores condições experimentais para a síntese dos copolímeros em bloco foram as utilizadas na reação B12, conforme será discutido no próximo capítulo. Realizou-se, então, outras quatro reações, empregando também a PNVCL obtida na reação S2 e o m-PEG com *Mn* igual a 5000 g/mol, na tentativa de obter copolímeros em bloco com massas molares diferentes. A metodologia utilizada nestas sínteses e para a purificação dos copolímeros foram as mesmas utilizadas nas reações anteriores e a Tabela 3.3 resume as condições experimentais adotadas.

3.2.3. Síntese dos copolímeros em bloco, PNVCL-b-mPEG, via mecanismo de polimerização por transferência reversível de cadeia por adição-fragmentação (RAFT/MADIX)

Essa metodologia foi dividida em duas etapas distintas: primeiramente foi sintetizado um macroagente de transferência de cadeia do tipo RAFT/MADIX à base de mPEG e, em seguida, esse macroagente foi utilizado para polimerizar, de forma controlada, a NVCL, via mecanismo RAFT.

3.2.3.1. Síntese do macroagente de transferência de cadeia RAFT/MADIX, mPEG-*o*EX

Figura 3.3 – Esquema das reações de síntese do macroagente de transferência de cadeia do tipo mPEG-oEX.



Fonte: Lui et al., 2014.

O procedimento adotado para a síntese do macroagente RAFT/MADIX, conforme descrito abaixo, foi adaptado de Liu et al. (2014). Foram sintetizados dois macroagentes de massas molares distintas (mPEG-*o*EX de 2000 e 5000 g/mol).

Primeiramente, foi feita a substituição das hidroxilas terminais do mPEG por átomos de bromo, de acordo com a seguinte metodologia: mPEG-OH (4 mmol de grupos -OH) e trietilamina (12 mmol, 1,67 mL) foram adicionados em um balão de fundo redondo de 250 mL e solubilizados em 100 mL de diclorometano em banho de gelo. Em seguida, foi preparada uma solução de brometo de 2-bromopropionila (12 mmol, 1,3 mL) em 20 mL de diclorometano. Essa segunda solução foi adicionada ao balão de fundo redondo, imerso em banho de gelo, contendo mPEG-OH e trietilamina, utilizando uma bomba dosadora, à velocidade de 0,167 mL/min, durante duas horas. Ao final da adição, o banho de gelo foi retirado e a reação ocorreu a temperatura ambiente por 24 horas, sob agitação magnética. Após remoção do precipitado formado, via filtração, 300 mL de diclorometano foram adicionados e a solução orgânica foi lavada sucessivamente com HCl 1M (3 x 50 mL), NaOH 1M (3 x 50 mL) e água deionizada (2 x 50 mL). A solução polimérica foi concentrada, em um evaporador rotativo, até cerca de 20 mL e, então, precipitada em 150 mL de éter gelado. O produto foi seco sob vácuo a 30°C até peso constante, levando à formação do intermediário mPEG-Br. As massas de mPEG-OH utilizadas nessas sínteses

variaram de acordo com suas respectivas massas molares e estão apresentadas na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Condições experimentais utilizadas na síntese do intermediário mPEG-Br, de 2000 e 5000 g/mol.

Reagente	Mn = 2000 g/mol		Mn = 5000 g/mol	
	Massa (g)	mmol	Massa (g)	mmol
TEA	1,2143	12	1,2143	12
BPB	2,5904	12	2,5904	12
mPEG-OH	7,7927	4	19,5503	4

TEA = Trietilamina; BPB= brometo de 2-bromopropionila.
Diclorometano (120 mL); banho de gelo por 2h;
Reação a temperatura ambiente por 24h.

Fonte: Próprio autor.

mPEG-Br (2 mmol) foi, então, dissolvido em 100 mL de acetona em um balão de fundo redondo de 250 mL, juntamente com 1,61 mL de piridina (20 mmol). Etilxantogenato de potássio (0,64 g, 4 mmol), solubilizado em 20 mL de acetona, foi adicionado à solução inicial, gota a gota, à velocidade de 0,667 mL/min, durante 30 minutos, com auxílio de uma bomba dosadora. A mistura foi então agitada por 24h, em um agitador magnético, a temperatura ambiente. O precipitado foi retirado por filtração e todo o solvente foi evaporado utilizando o evaporador rotativo. O produto foi solubilizado novamente em 200 mL de diclorometano e submetido a sucessivas lavagens com HCl 1M (3 x 30 mL), NaOH 1M (3 x 30 mL) e água deionizada (2 x 30 mL). A solução polimérica foi concentrada até cerca de 20 mL utilizando um evaporador rotativo e o polímero foi, então, precipitado em 150 mL de éter gelado. O produto (mPEG-*o*EX) foi seco sob vácuo a 30 °C até peso constante. A Tabela 3.5 resume as condições experimentais empregadas nessas sínteses.

Tabela 3.5 – Condições experimentais utilizadas a síntese do macroagente de transferência de cadeia mPEG-*o*EX de 2000 e 5000 g/mol.

Reagente	Mn = 2000 g/mol		Mn = 5000 g/mol	
	Massa (g)	mmol	Massa (g)	mmol
Piridina	1,5820	20	1,5820	20
oEX	0,6400	4	0,6400	4
mPEG-Br	3,8964	2	9,77515	2

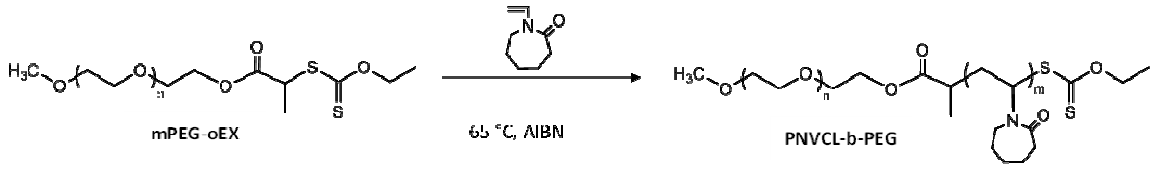
oEX = *O*-Etilxantogenato de potássio;
Acetona (120 mL); Reações conduzidas na temperatura ambiente, por um período de 24h

Fonte: Próprio autor.

3.2.3.2. Síntese dos copolímeros em bloco, mPEG-*b*-PNVCL, via o mecanismo de polimerização controlada, RAFT/MADIX

Em um balão de fundo redondo (50 mL) de três bocas foram adicionadas quantidades apropriadas (ver Tabela 3.6) de mPEG-oEX, NVCL e trioxano (padrão interno), juntamente com 75% do volume total do solvente (1,4-dioxano) e o sistema foi purgado com nitrogênio por 20 minutos. O AIBN (iniciador) foi pesado separadamente e solubilizado nos 25% restantes do volume do solvente. Atingida a temperatura desejada (65°C) a reação foi iniciada pela adição do iniciador ao meio reacional, durando 12 horas. Ao término das polimerizações a solução foi gotejada em 150 mL de *n*-hexano gelado. Em seguida, o precipitado formado foi solubilizado em 5 mL de diclorometano e precipitado novamente em *n*-hexano gelado. Finalmente, o copolímero foi filtrado e seco sob vácuo a 30 °C para eliminar os resíduos de solvente. O padrão interno (trioxano) foi utilizado para estudo cinético, via RMN ^{1}H. As condições experimentais empregadas nessas sínteses estão resumidas na Tabela 3.6. A Figura 3.4 apresenta o esquema das reações de polimerização para obtenção do copolímero em bloco, mPEG-b-PNVCL.

Figura 3.4 – Esquema das reações de extensão de cadeia utilizando o macroagente RAFT mPEG-oEX, para obtenção dos copolímeros em bloco, mPEG-b-PNVCL.



Fonte: Lui et al., 2014.

Tabela 3.6 – Formulações avaliadas para a síntese dos copolímeros em bloco, mPEG-*b*-PNVCL, via o mecanismo RAFT/MADIX.

Reação	Razão NVCL:AIBN:mCTA (mol)	NVCL (g)	AIBN (g)	mPEG-oEX (mCTA) (g)	$Vol_{1,4\ Dioxano}$ (mL)	Trioxano (g)	$Mn_{Teórico}$ [c] (g/mol)
R1	100:0,2:1	2,7838	0,0026	0,3898[a]	8,4	0,3003	15800
R2	150:0,2:1	4,1757	0,0026	0,3898[a]	12,5	0,4504	22800
R3	200:0,2:1	5,5676	0,0026	0,3898[a]	16,7	0,6005	29700
R4	100:0,3:1	2,7838	0,0039	0,3898[a]	8,4	0,3003	15800
R5	150:0,3:1	4,1757	0,0039	0,3898[a]	12,5	0,4504	22800
R6	100:0,2:1	4,7425	0,0026	0,9774[b]	14,2	0,5115	18800
R7	150:0,2:1	6,1344	0,0026	0,9774[b]	15,2	0,5450	25800
R8	200:0,2:1	7,5263	0,0026	0,9774[b]	22,6	0,8118	32700
R9	100:0,3:1	4,7425	0,0039	0,9774[b]	14,2	0,5115	18800
R10	150:0,3:1	6,1344	0,0039	0,9774[b]	15,2	0,5450	25800

[a] mPEG-oEX 2000 g/mol; [b] mPEG-oEX 5000 g/mol;

[c] $Mn_{Teórico}$=[NVCL].f.MM_{NVCL}/[mPEG-oEX]+$Mn_{mPEG\text{-}oEX}$,

Onde: [NVCL]/[mPEG-oEX] = Razão [Monômero]/[mCTA] = 100, 150 ou 200; f = conversão de monômero (100%); MM_{NVCL}= Massa molar da NVCL (139,1 g/mol); $Mn_{mPEG\text{-}oEX}$ = Massa molar média do macroagente RAFT determinada por RMN (1949 ou 4887 g/mol).

Fonte: Próprio autor.

3.2.4. Obtenção de partículas constituídas de copolímeros em bloco mPEG-*b*-PNVCL via secagem por atomização (“spray drying”)

Para a formação de partículas constituídas dos copolímeros em bloco previamente sintetizados, utilizou-se o equipamento Nano Spray Dryer B-90 (Büchi) (Figura 3.5), locado no Laboratório de Polímeros (LabPol), da Escola de Engenharia de Lorena (EEL/USP). Inicialmente foram estudadas algumas condições do processo para otimização das propriedades das partículas, tais como tamanho, polidispersidade e morfologia. Este estudo foi feito com o copolímero, PNVCL-b-mPEG, obtido na reação de acoplamento, B13 (PNVCL-b-mPEG), utilizando como homopolímeros a PNVCL de massa molar 5516 g/mol (reação S1) e o mPEG-OH, de massa molar 2000 g/mol. Os parâmetros estudados foram: concentração de polímero (1, 0,5 e 0,1 % (m/v)), tipo de solvente (água ou etanol PA); além do tamanho da malha do bico de atomização (4 ou 7 µm). Outras variáveis foram mantidas constantes como temperatura de entrada (110 °C), a taxa de atomização (“*spray rate”*, 100%), velocidade da bomba de alimentação (“*Pump”* 2) e fluxo de gás na câmara de secagem (110 L min^{-1}). O *inert loop* operou a 10 °C e o desumidificador a 40%. A pressão interna variou entre 40 e 50 mbar e a temperatura de saída entre 40 e 45 ºC. A Tabela 3.7 resume as formulações utilizadas. A massa de copolímero foi pesada em um béquer de 50 mL e, em seguida, esta foi solubilizada com 30 mL de solvente sob agitação magnética. Após completa solubilização do copolímero, esta solução de alimentação, foi levada ao Nano Spray Dryer B-90 para iniciar as atomizações.

Figura 3.5 – Nano Spray Dryer B-90, fabricado pela Büchi.

Fonte: Próprio autor.

O tempo total de atomização foi medido para determinação da taxa de alimentação, sendo que este pode variar de acordo com o tamanho da malha do bico atomizador e outras condições de processo como a concentração dos solutos, a temperatura de entrada e a taxa de atomização (ARPAGAUS, 2013).

Tabela 3.7 – Formulações estudadas para a otimização da morfologia e da distribuição de tamanhos das partículas, utilizando como matriz polimérica, o copolímero em bloco, PNVCL-b-mPEG, obtido na reação B13.

	Concentração da solução polimérica % (m/v)	Massa de Polímero (mg)	Volume de Solvente (mL)	Solvente	Malha do bico de atomização (µm)
B13_NSD01	1,0	300	30	Etanol	7
B13_NSD02	1,0	300	30	Água	7
B13_NSD03	0,5	150	30	Etanol	7
B13_NSD04	0,5	150	30	Água	7
B13_NSD05	0,1	30	30	Etanol	7
B13_NSD06	0,1	30	30	Água	7
B13_NSD07	0,1	30	30	Etanol	4

Fonte: Próprio autor.

Determinada a melhor condição de processo para este sistema, seguiu-se, então, para a etapa de encapsulação do cetoprofeno nas matrizes poliméricas.

3.2.5. Encapsulação de cetoprofeno nas matrizes poliméricas

Para o estudo da encapsulação de cetoprofeno, via secagem por atomização (*spray-drying*) utilizou-se os copolímeros em bloco $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ obtido pelas reações de acoplamento B13 e B14, respectivamente. As formulações iniciais foram preparadas com 30 ou 50 % (m/m) de cetoprofeno em relação à massa de copolímero na solução de alimentação. Para efeito de comparação foram feitas, ainda, duas atomizações com as mesmas massas de cetoprofeno utilizadas nas formulações de 30 e de 50 % (m/m), porém na ausência do copolímero. A Tabela 3.8 apresenta as formulações utilizadas para a encapsulação do fármaco na matriz polimérica.

Em um béquer de 100 mL foram adicionadas quantidades apropriadas de cetoprofeno e copolímero e, em seguida, adicionou-se 50 mL de etanol e a solução foi mantida sob agitação magnética por 30 min para completa solubilização. Quando utilizou-se o copolímero de maior massa molar, $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$, foi necessário deixar a solução em banho de ultrassom por 10 minutos para a completa solubilização do copolímero.

Tabela 3.8 – Formulações utilizadas para a encapsulação do cetoprofeno, empregando como matriz polimérica, PNVCL-b-mPEG, de diferentes massas molares.

	Copolímero	Cetoprofeno / Copolímero (%)	Quantidades		
			Cetoprofeno (mg)	Copolímero (mg)	Etanol (mL)
NPE01	$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$	30	15	50	50
NPE02	$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$	30	15	50	50
NPE03	$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$	50	25	50	50
NPE04	$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$	50	25	50	50
CT1	Cetoprofeno	*	15	0	50
CT2	Cetoprofeno	*	25	0	50

Fonte: Próprio autor.

3.2.6. Caracterizações

3.2.6.1. Dosagem de grupos carboxílicos terminais da PNVCL-COOH, via titulação condutimétrica

A dosagem dos grupos carboxílicos presentes nas extremidades das cadeias de PNVCL-COOH foi feita por titulação condutimétrica, segundo a seguinte metodologia: 0,5 g do polímero foi solubilizado em 100 mL de uma solução de NaCl (1mM). Antes das medidas de condutividade, foram adicionados 0,5 mL de uma solução de HCl (0,1 M) à solução polimérica inicial. A titulação foi, então, realizada com uma solução de NaOH (0,01 M) (Lauzier et al, 1994). Encontrado o ponto de equivalência da titulação, a dosagem dos grupos carboxílicos, pode ser estimada pela seguinte fórmula (OLIVEIRA, 2004):

$$[COOH] = \frac{V_{NaOH} \cdot f_{NaOH} \cdot M_{NaOH}}{m_{PNVCL}} \qquad .....(1)$$

Onde,

$[COOH]$ = Concentração de grupos carboxílicos (g/mol);

V_{NaOH} = Volume gasto de NaOH (L);

f_{NaOH} = Fator de correção da solução de NaOH;

M_{NaOH} = Concentração da solução de NaOH (mol/L^{1});

m_{PNVCL} = Massa de PNVCL-COOH (g);

Considerando que, em teoria, todas as extremidades das cadeias poliméricas possuem terminação carboxila, estima-se, então, a massa molar numérica média ($\overline{M_n}$) de cada amostra em g/mol, segundo a equação proposta por Stuart, 2002:

$$\overline{M_n} = \frac{m_{PNVCL}}{V_{NaOH} \cdot f_{NaOH} \cdot M_{NaOH}} \quad .....(2)$$

3.2.6.2. Determinação da Temperatura Crítica inferior de solubilização (LCST)

Para a determinação da Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) tanto dos homopolímeros PNVCL quanto dos copolímeros em bloco, utilizou-se a técnica de espectrofotometria de UV/Visível, utilizando um equipamento Genesys 10S (Thermo Scientific), locado no Laboratório de Polímeros do LOQ - EEL/USP. Depois de purificados, os polímeros foram diluídos em água à concentração de 5 g L^{-1}. A leitura da transmitância óptica foi realizada em um comprimento de onda de 570 nm em um intervalo de temperatura entre 28 e 42 °C, com incremento de 1°C/min. A LCST das soluções poliméricas foi estabelecida como sendo a temperatura na qual houve um decréscimo superior a 50% da transmitância óptica da solução inicial (MEDEIROS et al., 2010).

3.2.6.3. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

A massa molar numérica média ($\overline{Mn}$), a massa molar ponderal média ($\overline{Mw}$) e a dispersidade (Đ) dos polímeros foram determinados pela técnica de cromatografia de permeação em gel (GPC). Utilizou-se um cromatógrafo da marca Waters, incluindo uma bomba isocrática Waters 1515, injetor automático Waters 717 Plus, detector de índice de refração Waters 2414 (Laboratório de Polímeros, LOQ - EEL-USP). As amostras foram dissolvidas em THF, na concentração de 10 mg/mL, filtradas em filtro de membrana de PVDF modificada (0,45 µm) e depois injetadas no equipamento. As análises foram realizadas empregando colunas Phenogel, marca Phenomenex de 500, 10^3 e 10^4 Å. THF foi

utilizado como eluente, numa vazão de 1 mL/min^{-1}, e a temperatura interna das colunas foi mantida a 30 °C. A curva de calibração foi construída utilizando padrões de poliestireno.

3.2.6.4. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H)

Os homopolímeros e os copolímeros em bloco foram caracterizados por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) em um espectrofotômetro Varian, modelo Mercury, 300 MHz, no Laboratório de Espectrometria do LOQ – EEL/USP. Para estas análises, cerca de 10-15 mg de amostra foram solubilizados em 0,5 mL de solvente deuterado ($CDCl_3$).

3.2.6.5. Espectrometria de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A composição química dos homopolímeros e dos copolímeros em bloco, após o processo de purificação e secagem, foi avaliada através da espectrometria de infravermelho (FTIR). Estas análises foram conduzidas, utilizando-se pastilhas de KBr, em um aparelho da marca Shimadzu, modelo IR Prestige-21, locado no Laboratório de Polímeros do Departamento de Engenharia de Materiais (LOM) da EEL/USP.

3.2.6.6. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises térmicas dos homopolímeros, dos copolímeros, do cetoprofeno puro e das partículas foram realizadas em um equipamento da marca TA Instruments, modelo Q20, calibrado com padrões de Índio (In) (Laboratório de Polímeros LOQ-EEL/USP). As amostras (cerca de 7 mg) foram inseridas em um porta amostra hermético e analisadas nas seguintes condições: taxa de aquecimento de 20°C/min, faixa de temperatura compreendida entre -80 e 250 °C, fluxo de nitrogênio 50 mL/min. O resfriamento foi feito com adição de nitrogênio líquido, com a auxílio de um "*Quench cooler*".

3.2.6.7. Difração de Raios X

Para determinar a cristalinidade do cetoprofeno puro e das partículas poliméricas contendo cetoprofeno utilizou-se a técnica de difração de raios X. O difratômetro da marca PANnalytical, modelo Empyrean, foi operado com feixe de radiação monocromática de CuKα, com intervalos angulares de 10 – 90°, com passo angular de 0,02° e tempo de contagem de 20 segundos. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Difração de Raios X do Departamento de Engenharia de Materiais (LOM) da EEL/USP.

3.2.6.8. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das partículas de $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ puras e contendo cetoprofeno, obtidas por secagem por atomização, foi avaliada utilizando a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). O equipamento, marca Zeiss, modelo Evo LS215, foi operado com uma voltagem de

2 a 5kV e com magnitude de 10000 ou 20000 x. Antes de realizar as micrografias, as amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro. O equipamento está locado no Laboratório de Imagens de Materiais (LAIMat) da Universidade Estadual Paulista, campus de Guaratinguetá-SP (FEG/UNESP).

3.2.6.9. Determinação da eficiência de recuperação das partículas secas por atomização

A eficiência de recuperação (ER) das partículas foi calculada pela razão entre a quantidade de partículas recuperada após a atomização, em massa, e a quantidade total de polímero, em massa, na solução inicial. A fórmula para determinação da eficiência de recuperação (ER) está representada pela equação (1):

$$ER\ (\%) = \frac{M_f}{M_0} x\ 100 \qquad ....(3)$$

ER = Eficiência de recuperação das partículas (%);

M_f= Massa de partículas recuperadas (mg);

M_0 = Massa total de polímero na solução de alimentação (mg);

3.2.6.10. Determinação do teor de fármaco e eficiência de encapsulação do fármaco nos copolímeros

Além da eficiência de recuperação, determinou-se, ainda, o teor de fármaco (TF) e a eficiência de encapsulação (EE) do fármaco nas matrizes poliméricas. Para estimar o TF e a EE foi necessário determinar a quantidade de cetoprofeno nas partículas após a atomização. Para isto foi elaborada,

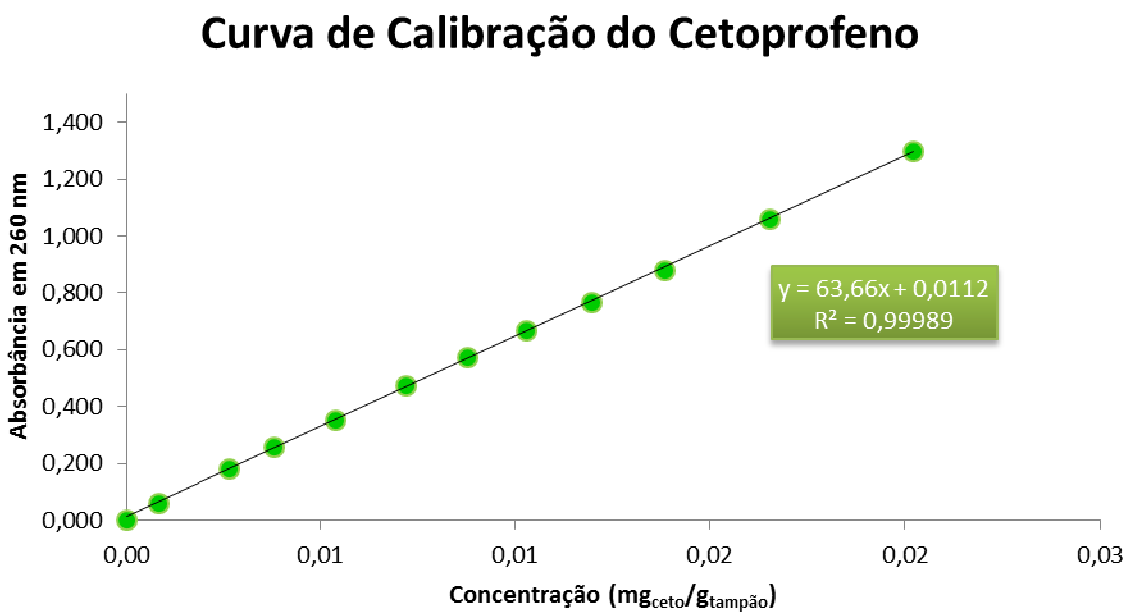
primeiramente, uma curva de calibração utilizando a técnica de espectrofotometria de UV/vis. A curva de calibração do cetoprofeno foi feita, em tampão fosfato com pH 7,4, e em um comprimento de onda de 260 nm. Inicialmente, pesou-se 10 mg de cetoprofeno e diluiu-se em 100 g de tampão e, então, retirou-se uma alíquota desta solução inicial (C0) e diluiu-se com tampão e verificou-se a absorbância em 260 nm (C1). Retirou-se, então, uma alíquota desta solução de concentração C1, a diluiu-se novamente com tampão, dando origem a solução de concentração C2, e verificou-se a absorbância em 260nm. O mesmo procedimento foi repetido sucessivas vezes para a obtenção da solução de cetoprofeno nas concentrações C3-C11, conforme pode ser observado na Tabela 3.9. A Figura 3.6 apresenta o gráfico correspondente à curva de calibração

Tabela 3.9 – Concentrações das soluções de Cetoprofeno em tampão fosfato, com pH 7,4 e leituras de absorbância no UV/visível, em comprimento de onda de 260 nm.

Diluição	Concentração ($mg_{cetoprofeno}/g_{tampão}$)	Absorbância (260nm)
C1	0,0202	1,298
C2	0,0165	1,060
C3	0,0138	0,882
C4	0,0119	0,770
C5	0,0103	0,669
C6	0,0088	0,576
C7	0,0072	0,473
C8	0,0054	0,353
C9	0,0038	0,258
C10	0,0027	0,184
C11	0,0008	0,062

Fonte: Próprio autor.

Figura 3.6 – Curva de calibração do cetoprofeno em tampão fosfato 7,4 obtida por espectrofotometria de UV/vis, em comprimento de onda de 260nm.



Fonte: Próprio autor.

Por regressão linear dos resultados obteve-se a equação da reta que relaciona a absorbância com a concentração de cetoprofeno em tampão fosfato pH 7,4 (Equação (4)).

$$A = 63{,}66xC + 0{,}0112 \qquad .....(4)$$

Onde,

A = Absorbância;

C = Concentração de cetoprofeno ($mg_{cetoprofeno}/g_{tampão}$);

Em seguida, a estimativa do teor de fármaco (TF) e da eficiência de encapsulação (EE) foi realizada da seguinte forma: cerca de 2 mg de amostra foram dissolvidos em aproximadamente 25 g de tampão fosfato pH 7,4 e mantidos sob agitação rigorosa por 48h a temperatura ambiente. Decorrido o tempo necessário para solubilizar as partículas, uma alíquota foi retirada e a absorbância foi medida no espectrofotômetro de UV/vis em um comprimento de onda de 260

nm. Quando necessário, as amostras foram diluídas para que a absorbância tivesse um valor entre 0,0 e 1,0. Com o auxílio da equação de primeiro grau obtido pela curva de calibração a massa de cetoprofeno final foi estimada e o TF e a EE determinados de acordo com as equações (5) e (6), respectivamente.

$$TF(\%) = \frac{M_{cetoprofeno\ final}}{M_{partícula\ final}} x100 \quad ....(5)$$

$$EE(\%) = \frac{M_{Cetoprofeno\ final}}{M_{Cetoprofeno\ inicial}} x100 \quad ....(6)$$

Onde,

$M_{cetoprofeno\ final}$ = Massa de cetoprofeno final obtida por espectrofotometria de UV/vis (mg);

$M_{partícula\ final}$ = Massa de partícula recuperada após a atomização (mg);

$M_{cetoprofeno,inicial}$ = Massa de cetoprofeno no solução de alimentação (mg);

3.2.6.11. Ensaios de liberação do cetoprofeno "*in vitro*" de cetoprofeno a partir das matrizes poliméricas

A cinética de liberação "*in vitro*" do cetoprofeno a partir das matrizes poliméricas constituídas de PNVCL-b-mPEG foi avaliada em solução tampão fosfato, em pH 7,4, em duas temperaturas diferentes: 25 e 37°C. A metodologia empregada foi similar à descrita por Oliveira et al. (2013). As amostras foram preparadas da seguinte maneira: 30g de solução tampão foram pesados e deixados sob agitação magnética a 200 rpm na temperatura desejada, em seguida, cerca de 2 mg de amostra foram adicionados à solução. Foram retiradas alíquotas de 2 mL em tempos predeterminados: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120 minutos e a absorbância correspondente à cada alíquota

foi determinada por espectrofotometria de UV/Vis em comprimento de onda de 260 nm e a concentração de cetoprofeno em cada alíquota foi determinada, utilizando a curva de calibração mostrada na Figura 3.6. Após a leitura por UV/Vis as alíquotas retiradas retornaram para o meio de liberação. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Síntese do copolímero em bloco, PNVCL-b-mPEG, via reações de acoplamento

A primeira rota química adotada para a síntese dos copolímeros em bloco, constituídos de poli(*N*-vinilcaprolactama) e poli(etileno glicol) foi o acoplamento entre homopolímeros com funções reativas terminais. Para isto, explorou-se as reações de esterificação, envolvendo a PNVCL-COOH e o mPEG-OH, na presença de um agente de acoplamento e de uma catalisador. Inicialmente sintetizou-se a PNVCL-COOH com terminação carboxila pelo mecanismo de polimerização via radicais livres, na presença de um agente de transferência de cadeia (CTA) da classe das mercaptanas (ácido 3-mercaptopropiônico, MPA). Este CTA atua como um agente de controle de massa molar ao mesmo tempo que funcionaliza as extremidades das cadeias de PNVCL finais.

4.1.1. Síntese da poli(*N*-vinilcaprolactama) com grupos carboxílicos terminais (PNVCL-COOH)

Os homopolímeros de PNVCL-COOH, foram sintetizados, pelo mecanismo de polimerização via radicais livres, utilizando duas razões de [CTA]/[NVCL] com o objetivo de preparar dois polímeros de massas molares diferentes. A Tabela 4.1, a seguir, apresenta os resultados de massa molar numérica média ($\bar{M}_n$) dos homopolímeros, obtidos via as técnicas de GPC, titulação condutimétrica e RMN de ^{1}H. Além da massa molar ($\bar{M}_n$), também estão apresentados os resultados das dosagens dos grupos carboxílicos e de dispersidade (Đ). A intensidade relativa dos picos em δ ≅ 4,30 (1H, -NCH-, **b**) e

2,84 (2H, -SCH_2C-, **h**) ppm da PNVCL-COOH (Figura 4.2) foi utilizada para calcular a massa molar numérica média ($\overline{M}_n$) por RMN de ^1H (PRABAHARAN et al., 2009).

Tabela 4.1 – Dados de massa molar média obtidos pelas técnicas de GPC, titulação condutimétrica e RMN ^1H para o produto das sínteses da poli(*N*-vinilcaprolactama) com terminação carboxila (PNVCL-COOH).

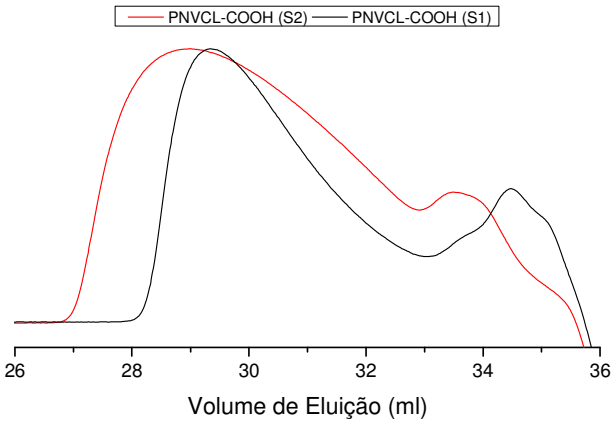
Reação	*Relação [CTA]/[NVCL]*	$\overline{M}_n$* *(g/mol)*	$\overline{M}_w$ *(g/mol)*	$\overline{M}_w/\overline{M}_n$	*Grupos Carboxílicos x10^3 (mol.g^{-1})*	$\overline{M}_n$** *(g/mol)*	$\overline{M}_n$*** *(g/mol)*
S1	0,100	5516	7532	1,37	0,1590	6289	6631
S2	0,050	6492	10014	1,54	0,0733	13646	7694

* Massa molar numérica média obtida por GPC. ** Massa molar média obtida por titulação. *** Massa molar média obtida por RMN ^1H

Fonte: Próprio autor.

Como era esperado a diminuição da razão CTA/Monômero de 10 para 5%, acarretou no aumento da massa molar dos homopolímeros de 5516 para 6492 g/mol. Resultados semelhantes foram previamente reportados por Medeiros et al. (2010), na síntese da poli(*N*-vinilcaprolactama) e também por Chen et al. (1997), na polimerização da poli(*N*-isopropilacrilamida). Em ambos os trabalhos, utilizou-se o mesmo agente de transferência de cadeia (CTA), ou seja, o ácido 3-mercaptorpopiônico (MPA) para redução das massas molares dos polímeros e funcionalização das extremidades das macrocadeias. A Figura 4.1 apresenta o perfil das curvas de GPC para os produtos obtidos nestas primeiras sínteses.

Figura 4.1 – Cromatogramas de GPC dos homopolímeros, PNVCL-COOH, sintetizados com diferentes razões molares entre agente de transferência de cadeia e monômero (CTA/NVCL).



Fonte: Próprio autor.

Além da determinação da massa molar por GPC, também é possível calcular o tamanho das cadeias poliméricas por titulação, utilizando as equações propostas por Stuart (2002), e por RMN de ^{1}H (IZUNOBI E HIGGINBOTHAM, 2011). Uma característica particularmente útil do espectro de RMN ^{1}H na determinação da massa molar é que, as áreas sob os picos de ressonância no espectro, são proporcionais a concentração molar das espécies na amostra analisada. Assim é possível estimar a massa molar do polímero utilizando as equações (7) e (8). A equação (7) é utilizada para encontrar o número de unidades repetidas de monômero presente na macromolécula, para isto, é preciso definir um próton que não esteja repetido ao longo da cadeia (ou: um próton que não esteja presente em uma unidade repetida ao longo da cadeia...) apresente unidades repetidas na cadeia (h), geralmente presente em um grupo terminal, e um outro característico do monômero em questão (b) (IZUNOBI; HIGGINBOTHAM, 2011).

$$\frac{A_b}{n_b.m_b} = \frac{A_h}{n_h.m_h} \qquad ....(7)$$

Onde A é a área ou intensidade do pico das espécies b ou h no espectro, n o número de repetições da unidade na cadeia polimérica e m o número de prótons destas espécies. Como pode ser visto na Figura 4.1, no caso da PNVCL-COOH, $n_h = 1$, $m_h = 2$, $m_b = 2$ e $A_h = 1$, assim, empregando a equação (7) é

possível determinar o número de repetição da unidade monomérica na cadeia do polímero (n_b). De posse deste resultado é possível estimar a massa molar numérica média ($\bar{M}_n$) utilizando a equação (8) (IZUNOBI; HIGGINBOTHAM, 2011):

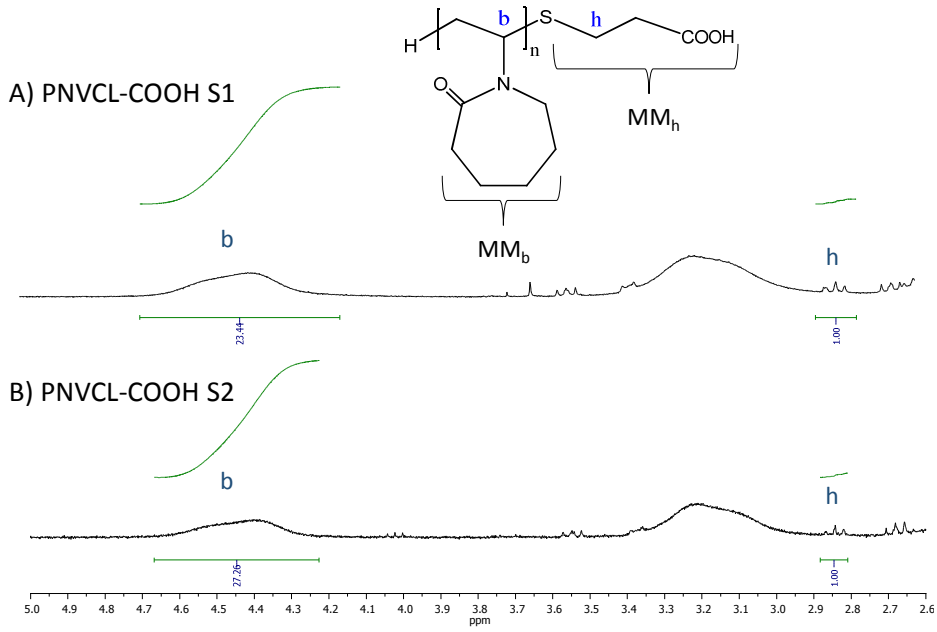
$$\bar{M}_n = n_b . MM_b + MM_h \qquad ....(8)$$

Onde,

MM_b = 139,19 g/mol, corresponde a massa molar da unidade repetida;

MM_h = 105 g/mol, corresponde a massa molar do grupo terminal;

Figura 4.2 – Espectro de RMN ¹H dos homopolímeros, PNVCL-COOH, sintetizados com 10 e 5% molar de CTA em relação ao monômero em clorofórmio deuterado.



Fonte: Próprio autor.

No caso da PNVCL-COOH a massa molar foi calculada, por RMN ¹H, combinando as equações 7 e 8:

$$\bar{M}_n = MM_b \frac{A_b . n_h . m_h}{m_b . A_h} + MM_h = 139{,}19 \frac{A_b . 1.2}{A_h . 1} + 105, \qquad .....(9)$$

Assim, substituindo os valores da intensidade do pico A_b e A_h para os homopolímeros de PNVCL, sintetizados com 10% (S1) e 5% (S2) de MPA, determina-se a massas molares correspondentes, apresentadas na Tabela 4.1.

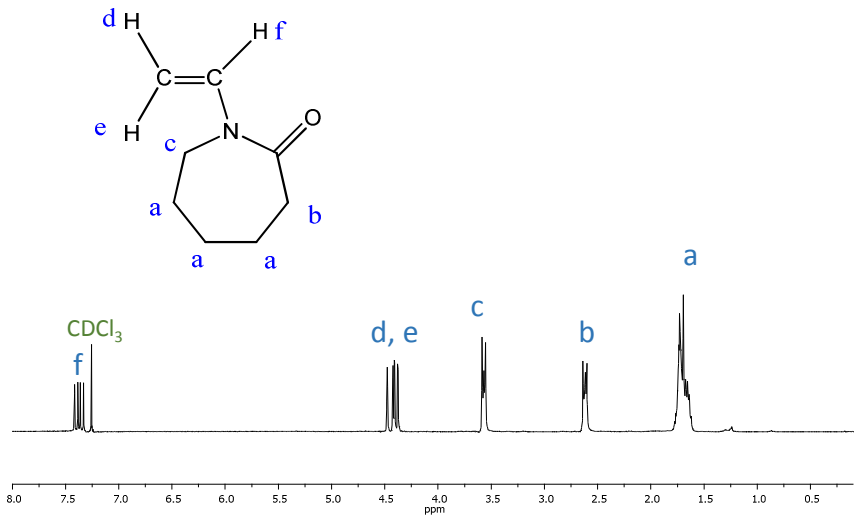
Comparando as massas molares obtidas por GPC, via titulação e por RMN ^{1}H, observou-se uma diferença significativa entre os valores obtidos. Isto era esperado uma vez que a determinação da massa molar em polímeros, em geral, conduz a um valor médio e não absoluto. Cada técnica possui vantagens e desvantagens por exemplo, quando se utiliza a cromatografia de permeação em gel o principal problema está no fato de que o princípio fundamental de separação é baseado no volume hidrodinâmico do polímero, sendo assim, podem haver diferenças entre os volumes hidrodinâmicos do polímero em análise (PNVCL) e do padrão utilizado para fazer a curva de calibração (ex.: PS, PMMA, etc.) (IZUNOBI; HIGGINBOTHAM, 2011). Já para se estimar a massa molar por titulação e por RMN ^{1}H é necessário admitir que todas as cadeias poliméricas tenham um grupo carboxílico terminal proveniente do MPA, o que não é verdade, visto que, o mecanismo de polimerização empregado não é controlado e, portanto, reações laterais podem ocorrer e levar a formação de homopolímeros sem funcionalização. Prova disto é que os valores de massa molar numérica média, obtidos por RMN ^{1}H e titulação são maiores do que o valor obtido por GPC, o que é plausível, posto que, se todas as cadeias poliméricas possuíssem grupos –COOH na extremidade, seria encontrada uma concentração maior de ácido, por titulação, levando a um menor valor de massa molar, visto que, a relação entre a dosagem dos grupos carboxílicos e a massa molar é inversamente proporcional, como pode ser observado nas equações (1) e (2), do capítulo 3, Materiais e Métodos. O mesmo raciocínio pode ser feito com relação a massa molar obtida por RMN ^{1}H, havendo mais grupos carboxílicos na cadeia polimérica, maior seria a intensidade da área correspondente aos prótons do grupo h, à $\delta \cong 2{,}84$ ppm (A_h) em relação à área referente aos prótons da unidade repetida, em b (A_b, $\delta \cong 4{,}30$ ppm) o que geraria uma menor massa molar. Assim, fica claro que há polímeros não funcionalizados presentes no produto final. Černoch et al. (2015), reportaram a síntese da PNVCL, em benzeno, utilizando MPA e AIBN, como agente de transferência de cadeia e iniciador, respectivamente. Segundo os autores a PNVCL obtida apresentou 55% de

funcionalização, de acordo com os dados do teor de enxofre, proveniente do MPA, na cadeia de PNVCL-COOH, obtido pela técnica de análise elementar. Entretanto esta taxa de funcionalização pode variar de acordo com as condições de síntese.

Análises de RMN ^{1}H também foram realizadas com o objetivo de confirmar a estrutura dos homopolímeros de PNVCL, sintetizados nesta etapa. A Figura 4.3 apresenta o espectro de RMN ^{1}H do monômero (NVCL) e a Figura 4.4 o espectro dos polímeros (PNVCL-COOH) obtidos nas reações S1 e S2.

No espectro de RMN ^{1}H da NVCL, os prótons dos grupos metileno (6H, $-CH_2-$, **a**, do anel caprolactama) são equivalentes e aparecem em δ 1,51-1,82 ppm. Os picos referentes aos grupos CH_2, próximos a carbonila (2H, $-CH_2C=O$, **b**) e ao nitrogênio do anel caprolactama (2H, $-CH_2N-$, **c**) são observados em 2,42 e 3,55 ppm respectivamente. Os picos presentes em 4,28, 4,48 e 7,35 ppm correspondem aos prótons do grupo vinílico (2H, $CH_2=$, **d** e **e**), (1H, -NCH=, **f**), respectivamente.

Figura 4.3 – Espectro de RMN ^{1}H da *N*-vinilcaprolactama (NVCL), obtido em equipamento Varian Mercury, 300 MHz, utilizando clorofórmio deuterado como solvente e TMS como referência.

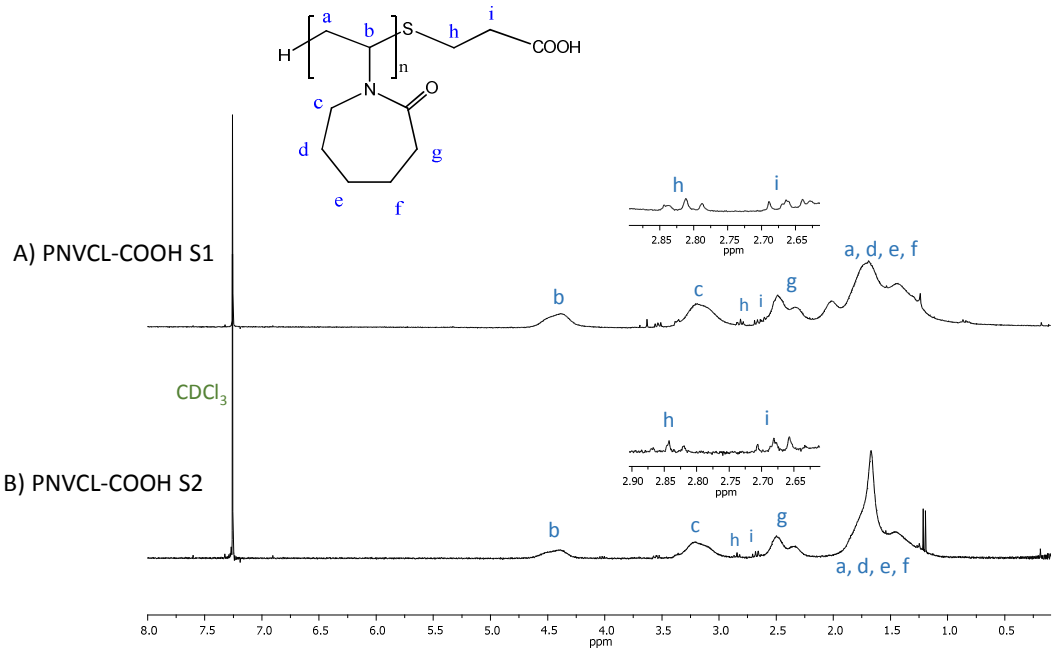


Fonte: Próprio autor.

No espectro de RMN ^{1}H da PNVCL-COOH os picos, em geral, tornaram-se mais largos, confirmando a presença das macrocadeias. O espectro

apresentou picos em δ=4,3 (ppm) (1H, -HCN- da posição α, **b**), 3,2 (2H, -NCH_2-, **c**), 2,3 (2H, -$COCH_2$-, **g**), e 1.1–1.9 (6H, -CH_2-, **d**, **e** e **f**, do anel caprolactama), e 1,8 ppm (2H, -CH_2-, **a**). Também foram observados dois sinais em δ= 2,75 e 2,81 ppm referente aos prótons provenientes do agente de transferência de cadeia (2H, -$CH_2C\underline{H_2}CO$, **i**) e (2H, -$SC\underline{H_2}CH_2$-, **h**) (PRABAHARAN et al., 2009). No espetro da PNVCL-COOH não foram identificados os picos dos prótons do grupo vinílico em δ=7,35 ppm, o que confirma a ausência de monômeros residuais no polímero final.

Figura 4.4 – Espectro de RMN ^{1}H da PNVCL-COOH, sintetizada com 10% de MPA (S1) e 5% de MPA (S2), em clorofórmio deuterado.

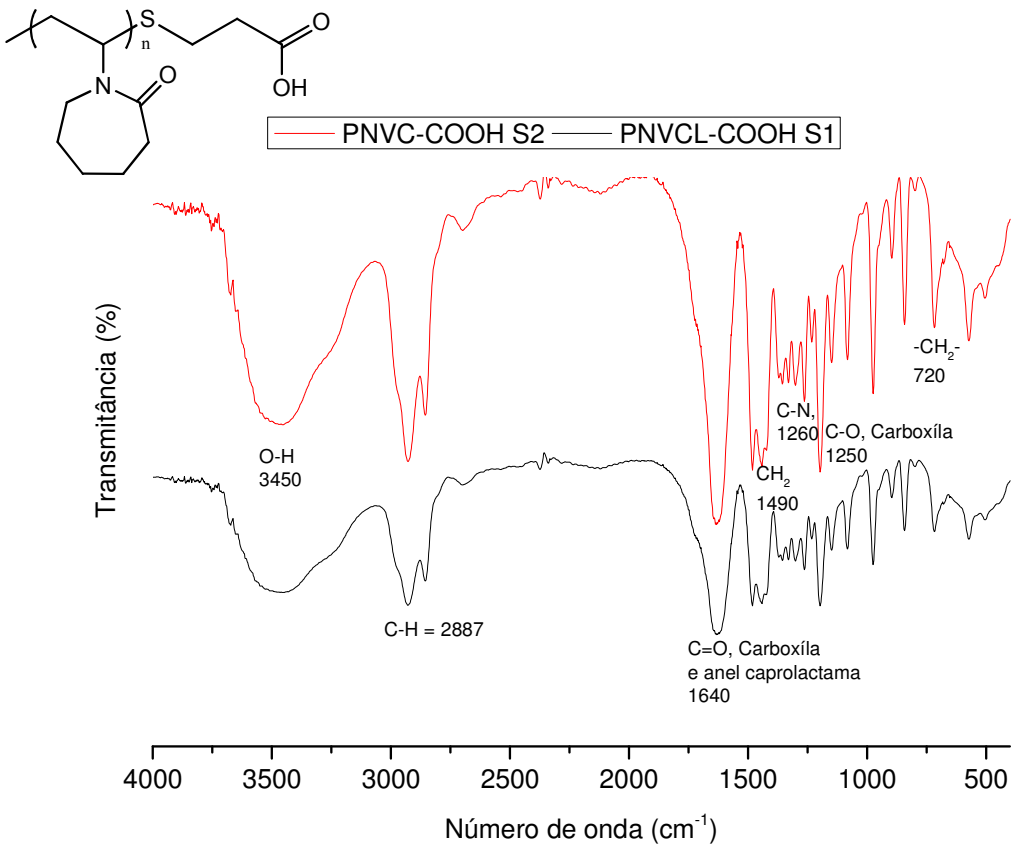


Fonte: Próprio autor.

Para confirmar a presença dos grupos carboxílicos nas macrocadeias de PNVCL, o produto das reações S1 e S2 foram submetidos à análises de FTIR e os espectros obtidos estão apresentados na Figura 4.5. Primeiramente, observa-se uma banda larga em 3450 cm^{-1}, característica de grupos OH e outra em 1640 cm^{-1}, referente à deformação axial da carbonila (C=O) do anel caprolactama. Além disso, a banda referente à deformação axial da ligação C-O da carboxila pode ser observada em 1250 cm^{-1}. A presença das bandas mencionadas acima pode, portanto, confirmar a funcionalização das extremidades

das macrocadeias de PNVCL com os grupos carboxílicos, provenientes do agente de transferência de cadeia, ácido 3-mercaptopropiônico.

Figura 4.5 – Espectros de FTIR dos produtos (PNVCL-COOH), obtidos das reações S1 e S2.



Fonte: Próprio autor.

4.1.2. Reações de acoplamento

Quando se pretende sintetizar copolímeros em bloco, partindo-se de dois homopolímeros semitelequélicos, vários agentes de acoplamento podem ser empregados. Neste trabalho, para a síntese dos copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-PEG, optou-se pela utilização da diciclo-hexilcarbodiimida (DCC), como agente de acoplamento e da 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) como catalisador. O tempo e a temperatura de reação, além da proporção entre os homopolímeros de partida

são variáveis importantes no processo e por este motivo, foram avaliados neste projeto. As concentrações de DDC e DMAP foram mantidas constantes.

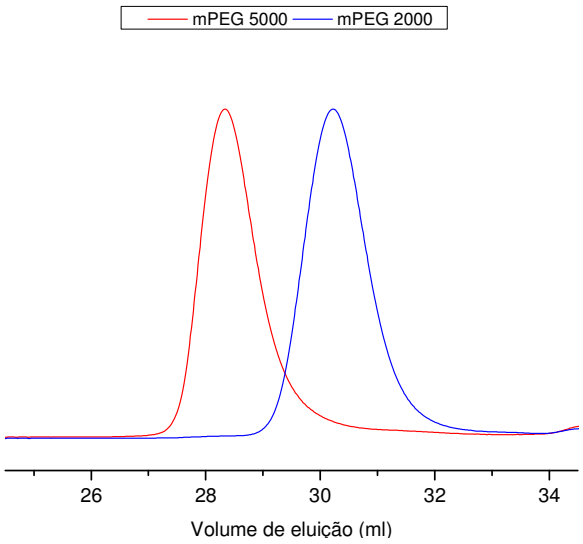
O PEG utilizado em todas as sínteses é de origem comercial (Sigma Aldrich) e possui uma hidroxila livre em apenas uma das extremidades da cadeia (mPEG-OH). Duas massas molares foram indicadas pelo fornecedor (2000 e 5000 g/mol). Para confirmar os valores de massa molar indicados nas fichas técnicas dos produtos, os mesmos foram analisados pelas técnicas de GPC e de RMN ^{1}H. Os valores de massa molar e de dispersidade encontrados nestas análises foram comparados com os valores informados pelo fornecedor (Tabela 4.2). Os cromatogramas de GPC, obtidos para as amostras de mPEG-OH, de massas molares iguais a 2000 e 5000 g/mol estão representados na Figura 4.6.

Tabela 4.2 – Resultados obtidos na caracterização dos homopolímeros, mPEG-OH, pelas técnicas de GPC (THF, padrão PS) e RMN ^{1}H (Clorofórmio deuterado).

	GPC		RMN	Fabricante	
	$\bar{M}_n$ (g/mol)	Đ	$\bar{M}_n$ (g/mol)	[OH] (mol/kg)	$\bar{M}_n$(g/mol)
mPEG 2000	2423	1,09	2242	0,5133	1949
mPEG 5000	7871	1,08	5825	0,2046	4887

Fonte: Próprio autor.

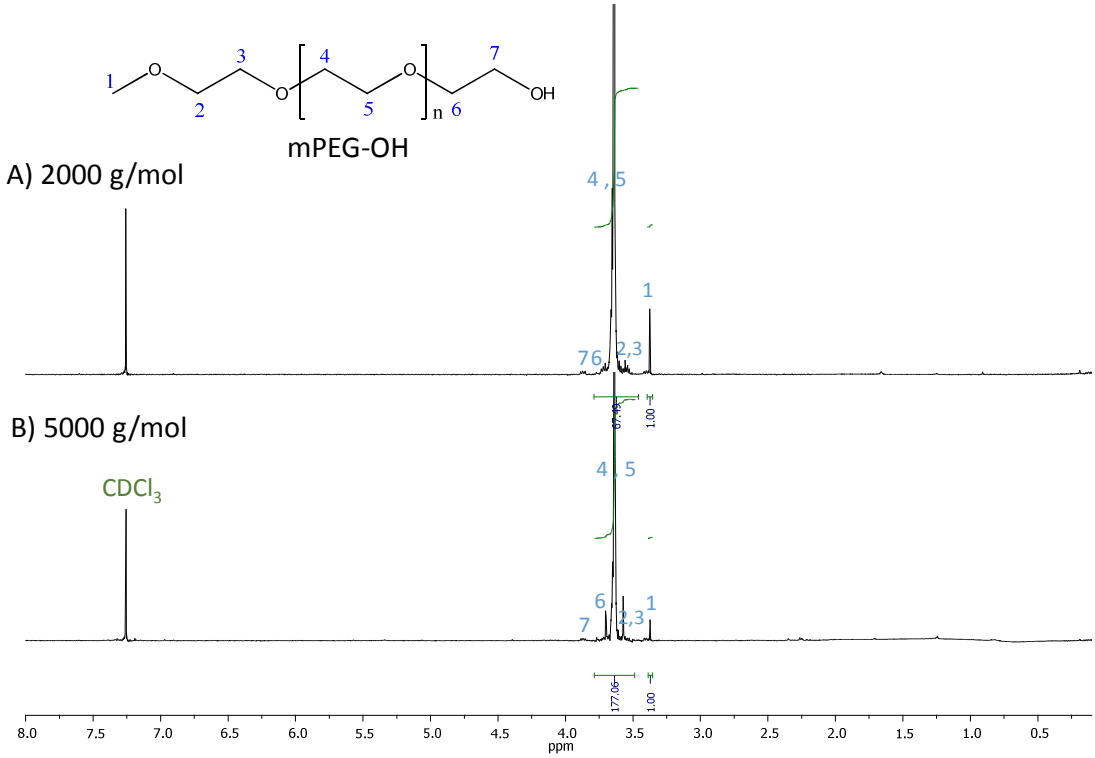
Figura 4.6 – Cromatogramas de GPC dos homopolímeros de partida de poli(etileno glicol) de 2000 e 5000 g/mol.



Fonte: Próprio autor.

Como pode ser visto na Figura 4.6, tanto o mPEG-OH de 2000 g/mol quanto o polímero com 5000 g/mol apresentam uma distribuição de tamanho de cadeias estreita e, consequentemente, baixa dispersidade (Đ). A técnica de ressonância magnética nuclear de prótons foi utilizada para confirmar a estrutura química e estimar a massa molar do mPEG-OH, empregando as equações (7) e (8) de modo similar ao adotado para calcular a massa molar da PNVCL-COOH. Na Figura 4.7 são apresentados os espectros de RMN ^{1}H, correspondentes aos homopolímeros, mPEG-OH, de 2000 g/mol e de 5000 g/mol.

Figura 4.7 – Espectros de RMN ^{1}H dos homopolímeros, mPEG-OH, de 2000 g/mol e de 5000 g/mol.



Fonte: Próprio autor.

Na Figura 4.7, é possível identificar os deslocamentos químicos característicos do mPEG-OH em δ= 3,37 ppm (3H, -OCH3, **1**); 3,50 – 3,70 ppm (4H, -OCH2CH2-, **2, 3, 4, 5** e **6**); 3,85 – 3,90 (2H, -CH2CH2OH, **7**).

Após as caracterizações dos homopolímeros foi dado início ao estudo do efeito das condições experimentais, para a síntese de copolímeros em bloco,

via reações de acoplamento entre PNVCL-COOH e mPEG-OH. A Tabela 4.3 resume os resultados de massa molar ($\overline{M_n}$) e dispersidade (Đ) obtidos para os produtos das reações de acoplamento utilizando o DCC e o DMAP como agente de acoplamento e catalisador, respectivamente. A massa molar numérica média teórica ($\overline{M_n}_{Teórico}$) foi determinada pela soma algébrica das massas molares dos blocos de partida, obtidas por GPC ($\overline{M_n}_{Teórico}$=(5516)$_{PNVCL-COOH}$ +(2423)$_{mPEG-OH}$ = 7939 g/mol).

Tabela 4.3 – Dados de massa molar numérica média ($\overline{M_n}$), dispersidade (Đ) e a característica das curvas de distribuição de massas molares, obtidos por GPC, para os copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-PEG, obtidos via reações de acoplamento, empregando DCC como agente de acoplamento e DMAP como catalisador.

Reação	$\overline{Mn}_{Exp}$ (g/mol)	Đ	Distribuição de massa molar
B1	4421	1,51	Bimodal
B2	4869	2,08	Bimodal
B3	3712	1,49	Bimodal
B4	5791	1,31	Monomodal com ombro
B5	3801	2,13	Bimodal
B6	5809	2,33	Bimodal
B7	3911	2,67	Bimodal
B8	6535	2,04	Monomodal larga
B9	3876	1,52	Bimodal
B10	6583	1,52	Bimodal
B11	6190	1,42	Bimodal
B12	8786	1,58	Monomodal
MF	4823	1,43	Bimodal

MF = Mistura física dos homopolímeros de partida, na proporção 1:1. $Mn_{teórico}$=7939 g/mol;

Fonte: Próprio autor.

Na literatura, não há consenso com relação à razão entre as concentrações de agentes de acoplamento, de homopolímeros e de catalisador como pode ser visto na Tabela 2.1, da revisão bibliográfica (capítulo 2). O tempo de reação, em geral, varia entre 24 e 48h e, normalmente, a reação é conduzida a temperatura ambiente. A reação de esterificação entre ácidos carboxílicos e álcoois, catalisada por DMAP, na presença de DCC, foi reportada por Neises e

Steglich[4] (1978 apud COULEMBIER; DUBOIS, 2012, p. 1672). Segundo os autores, a adição de DMAP acelera a reação de esterificação ativada por DCC, resultando em bons rendimentos de reação, mesmo à temperatura ambiente. Por isto, neste estudo, algumas reações foram realizadas na temperatura ambiente. Contudo, em se tratando de reações envolvendo polímeros, o aumento da temperatura da reação, deverá aumentar o rendimento das reações. Este aumento no rendimento da reação em função do aumento da temperatura se deve ao aumento da probabilidade de encontro das extremidades das cadeias poliméricas, como reportado por Erothu et al, (2013), no caso de reações entre o poli(3-hexiltiofeno), com uma hidroxila terminal e o poli(óxido de etileno), com ácido carboxílico na extremidade.

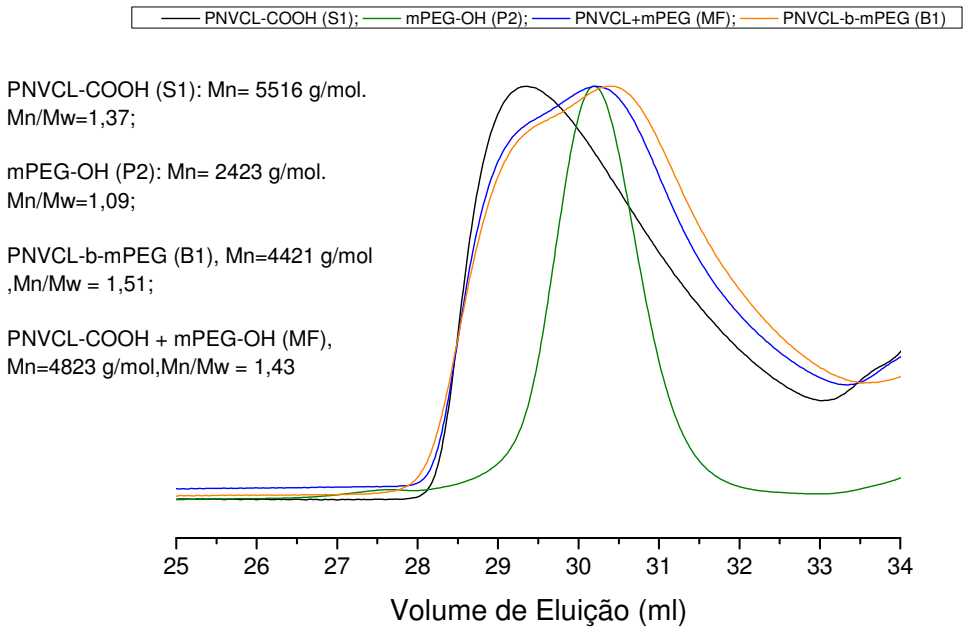
Assim, neste trabalho, foram estudados alguns parâmetros de reação, como a razão molar entre os homopolímeros, além do tempo e da temperatura de reação. Optou-se por não utilizar um excesso muito significativo dos homopolímeros de partida, devido à dificuldade de separação dos produtos das reações, dos homopolímeros residuais. Assim sendo, inicialmente, foram elaboradas quatro formulações todas com uma razão de concentrações de grupos carboxila e grupos hidroxila, [PNVCL-COOH]/[mPEG-OH], de 1:1 (reações B1, B2, B3 e B4). O tempo de reação variou entre 24 e 48h e as primeiras reações foram conduzidas a temperatura ambiente, enquanto as demais a 50°C. Em todas as reações a proporção molar do agente de acoplamento foi o dobro e a de catalisador 20%, ambas em relação ao mPEG-OH. Em uma série de reações (B5, B6, B7 e B8), o mPEG-OH foi utilizado em excesso (25%, molar) em relação à concentração da PNVCL-COOH. Finalmente, em um terceiro conjunto de experimentos, a PNVCL-COOH, foi utilizada em excesso (25%, em mol, em relação à concentração do mPEG-OH) (reações B9, B10, B11 e B12). Todas estas reações foram conduzidas nas mesmas condições de tempo e temperatura, das primeiras reações realizadas neste estudo.

---

[4] NEISES, B.; STEGLICH, W. **Angewandte Chemie International Edition**. Engl. v.17, p. 522–524, 1978.

Os cromatogramas de GPC mostram que, para todas as reações conduzidas na temperatura ambiente, o resultado foi o mesmo, independentemente do tempo de reação e da razão [PNVCL-COOH]:[mPEG-OH], ou seja, nenhum produto das reações B1, B2, B5, B6, B9 e B10 apresentou um acréscimo significativo de massa molar, para valores próximos ao do teórico. Além disso, o cromatograma obtido para o produto da reação B1, na Figura 4.8, indica a formação de polímero com distribuição de massas molares, do tipo bimodal, o que justifica o alto valor de dispersidade que foi observado para o produto desta reação (Tabela 4.3). Este resultado é muito similar aquele obtido para uma mistura dos dois homopolímeros, na mesma proporção que foi utilizada nas sínteses dos copolímeros em bloco. Isto ocorreu, possivelmente, devido à baixa eficiência da reação de acoplamento entre as macrocadeias, em função da baixa temperatura. Portanto, as reações de acoplamento, realizadas a temperatura ambiente, independentemente do tempo de reação e da proporção molar dos cada homopolímero, não foram efetivas para a síntese dos copolímeros em bloco.

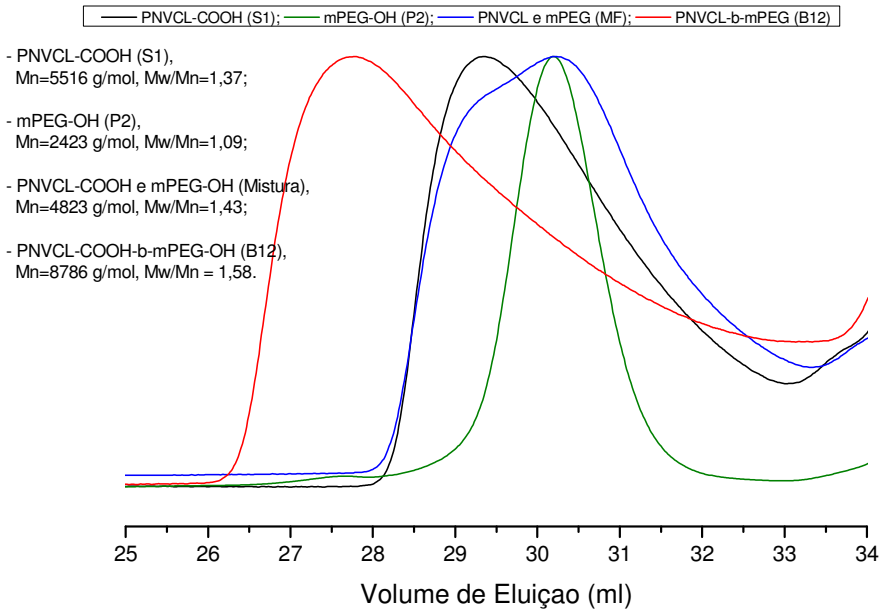
Figura 4.8 – Cromatogramas de GPC dos homopolímeros de partida, do produto da reação de acoplamento à temperatura ambiente (B1) e de uma mistura de PNVCL-COOH e mPEG-OH, na proporção 1:1.



Fonte: Próprio autor.

Comparando os resultados de GPC para os produtos das reações realizadas a 50 °C, observou-se que, ampliando o tempo de reação de 24 para 48h, houve aumento na massa molar e uma melhora na distribuição de tamanho de massa molar dos produtos das reações. Porém, no caso das reações B4 e B8, o valor da massa molar ficou abaixo do esperado. Os resultados de massa molar e de dispersidade observados para o produto da reação B12 indicam que está foi a melhor condição para as sínteses do copolímero em bloco. O valor da massa molar média aumentou consideravelmente, para um valor próximo ao teórico e foi obtida uma distribuição de massa molar com característica monomodal. Aparentemente, tanto o tempo de reação (48h) quanto a temperatura de reação (50°) e o excesso de PNVCL-COOH, contribuíram para aumentar o rendimento das reações de acoplamento. Mesmo com um rendimento aparentemente elevado, há resíduos de PNVCL-COOH de partida no produto final, que não foi possível separar, como pode ser visto na Figura 4.9.

Figura 4.9 – Cromatogramas de GPC do copolímero em bloco obtido pela reação B12, da mistura entre os homopolímeros de partida (PNVCL-COOH e mPEG-OH, na proporção 1:1) e dos homopolímeros de partida PNVCL-COOH e mPEG-OH. O solvente utilizado em todas as amostras foi o THF e o padrão PS.



Fonte: Próprio autor.

Este estudo inicial foi feito apenas para encontrar as melhores condições para as reações de esterificação entre a PNVCL-COOH e o mPEG-OH, utilizando DCC e DMAP como agente de acoplamento e catalisador, respectivamente. Outras caracterizações, como RMN ^{1}H, DSC e FTIR foram feitas com os copolímeros obtidos nas reações B13 a B16 a fim de confirmar a obtenção das estruturas em bloco. Determinadas as melhores condições para as reações de esterificação, foi dado continuidade ao estudo, com a síntese de copolímeros em bloco com diferentes massas molares, utilizando-se para tal fim, os homopolímeros apresentados na Tabela 4.4. A Tabela 4.4 resume os resultados, obtidos por GPC, para os copolímeros. Nestas reações, foi utilizado uma massa maior de homopolímeros de partida, com o objetivo de obter uma maior quantidade de copolímero para ser empregado nos estudos de encapsulação do cetoprofeno.

Tabela 4.4 – Resultados obtidos por GPC para os copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-PEG, obtidos nas reações de acoplamento utilizando homopolímeros de massas molares diferentes.

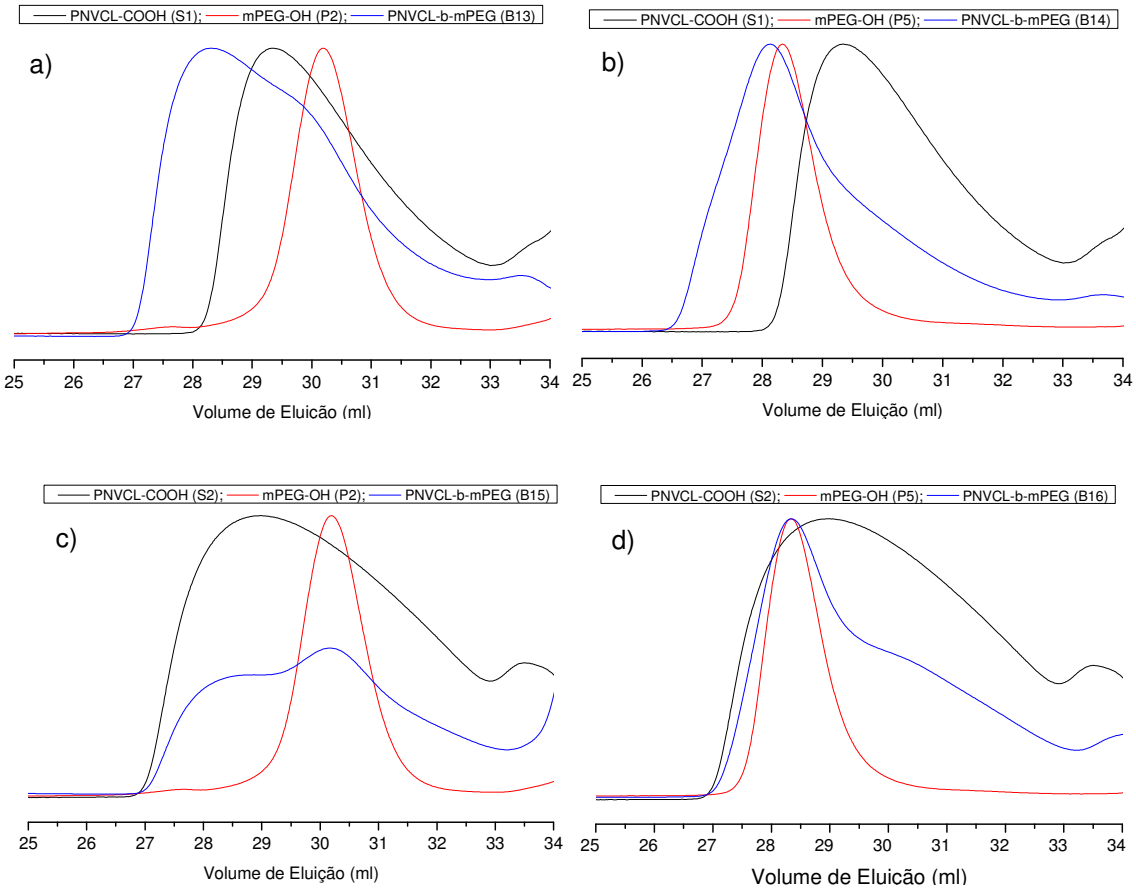
Reação	PNVCL-COOH	mPEG-OH	$\overline{Mn}_{Teórico}$ *(g/mol)*	$\overline{Mn}_{Real}$ *(g/mol)*	$\overline{M}_w/\overline{M}_n$	*Distribuição de massa molar*
B13	S1	P2	7939	8147	1,38	Monomodal com ombro
B14	S1	P5	13387	9835	1,37	Monomodal larga
B15	S2	P2	8915	3190	1,77	Bimodal
B16	S2	P5	14363	3852	1,71	Monomodal com ombro

Fonte: Próprio autor.

Como é possível observar na Tabela 4.4 e na Figura 4.10 a e b, os produtos obtidos nas reações B13 e B14, utilizando a PNVCL-COOH, S1, (polimerizada com 10%, em mol, de ácido 3-maercaptopropióico em relação a NVCL) apresentaram aumento de massa molar em relação aos homopolímeros de partida, para valores próximo dos teóricos. Isto é um indicativo de que houve a formação das estruturas em blocos, porém outras caracterizações foram realizadas afim de confirmar esta hipótese. Os produtos das reações B15 e B16, apresentaram uma distribuição de cadeias do tipo bimodal ou monomodal com ombro, e as massas molares calculadas são bem inferiores às teóricas, indicando

que a reação não foi bem sucedida, além disso, é possível identificar claramente a presença dos homopolímeros residuais nos cromatogramas de GPC do produtos destas reações (Figura 4.10 c e d). Estes resultados insatisfatórios, provavelmente, ocorreram devido à baixa taxa de funcionalização da PNVCL-COOH, sintetizada com 5% em mol de CTA em relação ao monômero. Como, possivelmente, há poucas cadeias de PNVCL com ácido carboxílico terminal, não houve a formação de copolímeros em bloco por acoplamento. Os resultados de GPC fornecem indícios de que não há copolímeros em bloco nos produtos das reações B15 e B16, sendo assim, os mesmos não foram submetidos a futuras caracterizações.

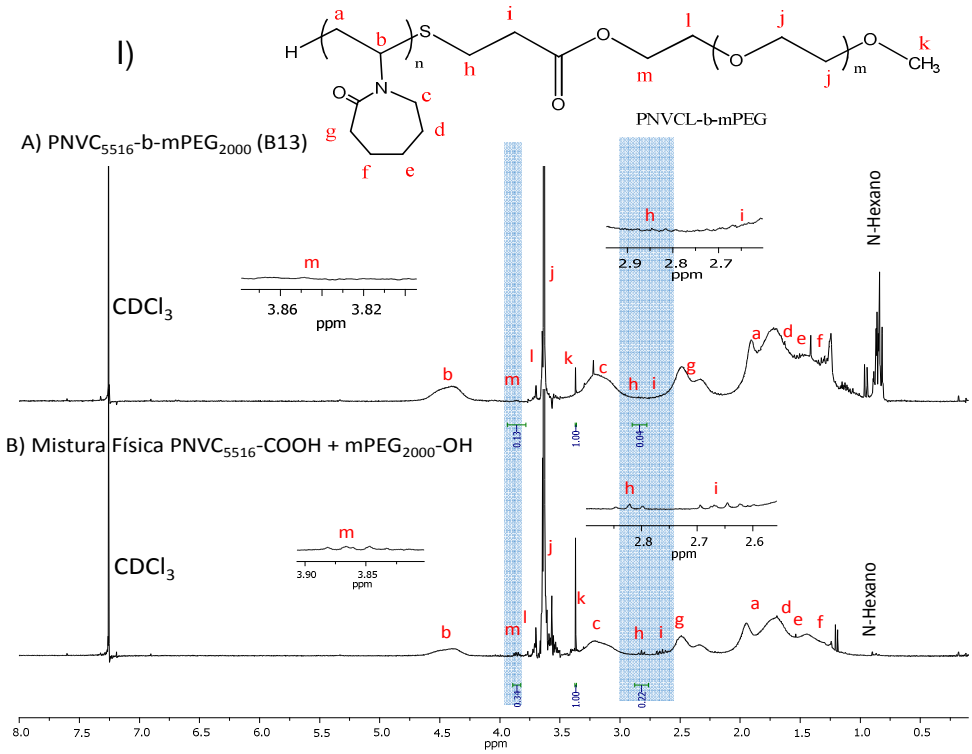
Figura 4.10 – Cromatogramas de GPC dos produtos das reações de acoplamento, via reações de esterificação, com a utilização de homopolímeros de diferentes massas molares. (a) produto da reação B13, (b) B14, (c) B15, (d) B16 e seus respectivos homopolímeros de partida.

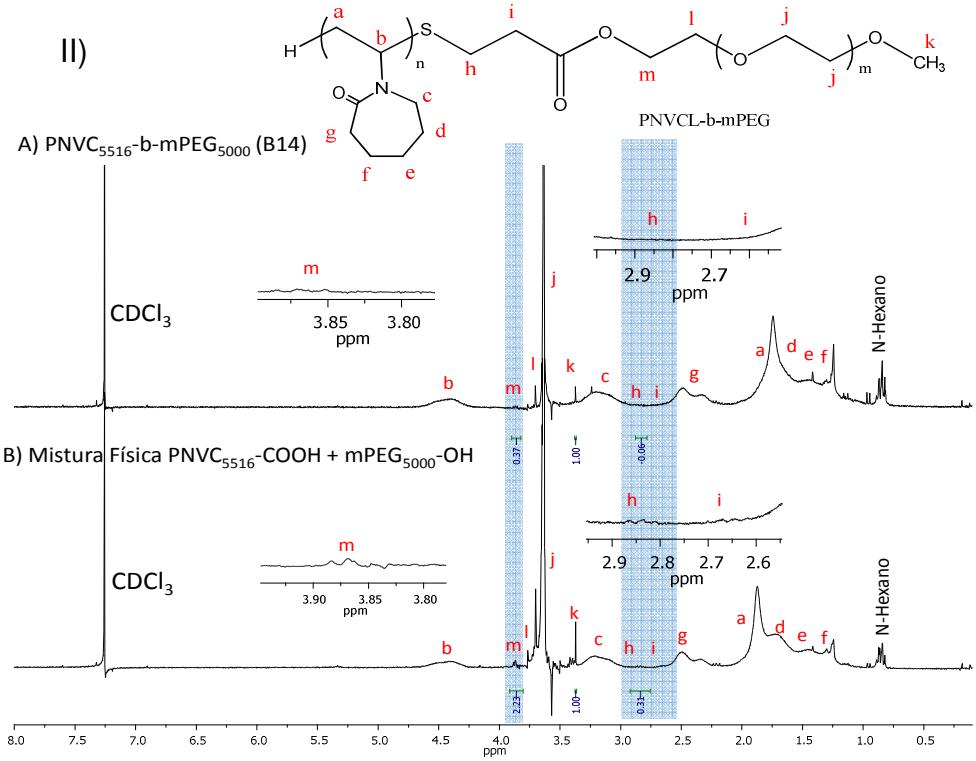


Fonte: Próprio autor.

Para confirmar a obtenção dos copolímeros em bloco, utilizou-se as técnicas de RMN¹ H, FTIR e DSC. Nos espectros de RMN ¹H (Figura 4.11 I e II), foram identificados todos os deslocamentos característicos de cada homopolímero de partida. A análise revelou, ainda, a presença de traços de n-Hexano no produto final, solvente que foi utilizado na precipitação do copolímero e que não pôde ser completamente removido. Para confirmar a formação dos copolímeros em bloco, foram feitas ainda, análises de RMN das misturas correspondentes a cada reação de esterificação.

Figura 4.11 – Espectros de RMN ¹H dos copolímeros em bloco, PNVCL-*b*-mPEG (A), obtidos nas reações B13 (I) e B14 (II) e das misturas físicas correspondentes (B).



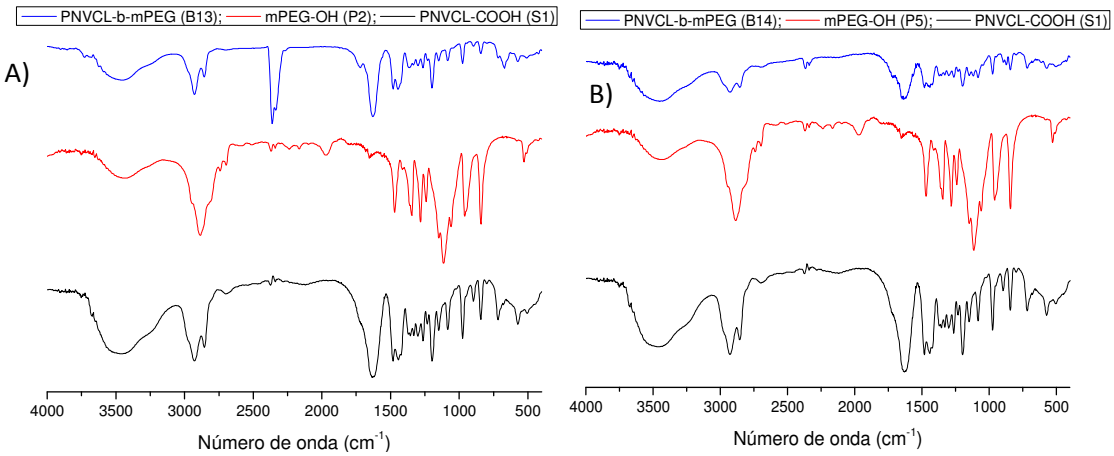


Fonte: Próprio autor.

Comparando os espectros da mistura física e do copolímero é possível identificar, em ambos os espectros, que, o deslocamento característico de grupo metileno alfa terminal da cadeia do mPEG-OH, δ= 3,85 – 3,90 (2H, -$OCH_2C\underline{H_2}OH$, **m**), teve sua intensidade diminuída no copolímero, em relação à mistura dos dois homopolímeros. Uma forma efetiva para a confirmação da reação de acoplamento, via RMN ^{1}H, seria a observação de um deslocamento destes prótons para valores próximos de 4,3 ppm (GAO et al., 2014; EROTHU et al., 2013; DRUMOND; WANG 2004). Este deslocamento não foi observado para nenhum dos copolímeros em bloco sintetizados, muito provavelmente devido à interferência do próton **b** (4,4 ppm), da unidade repetida do bloco de PNVCL que pode ter sobreposto este deslocamento. Os picos correspondentes à terminação carboxila da PNVCL-COOH em δ= 2,75 e 2,81 ppm (2H, -$CH_2C\underline{H_2}CO$, **i**) e (2H, -$SC\underline{H_2}CH_2$-, **h**) não foram identificados no espectro do copolímero, provavelmente, devido à baixa intensidade. Possivelmente, o acoplamento entre os blocos de PNVCL-COOH e mPEG-OH pode ter formado um copolímero em bloco de elevada massa molar e tal fato pode ter dificultado a visualização desses prótons nos espectros de RMN ^{1}H. Isto é mais um indicativo da formação dos copolímeros em bloco.

A Figura 4.12 (A) e (B) apresenta uma comparação entre os espectros de FTIR dos homopolímeros de partida, mPEG-OH e PNVCL-COOH e os espectros dos copolímeros em bloco, obtidos nas reações de acoplamento, B13 e B14. Esperava-se que a banda característica do grupo OH, em 3450 cm^{-1}, desaparecesse ou, pelo menos, apresentasse uma intensidade menor nos copolímeros, o que não ocorreu. Como esta é uma reação de acoplamento por esterificação, o grupo OH, presente tanto na PNVCL-COOH quanto no mPEG-OH, em um caso ideal, não deveria estar presente no copolímero em bloco. Assim, após as reações, uma diminuição na intensidade do pico em 3450 cm^{-1} poderia confirmar a obtenção da estrutura dos copolímeros em bloco. É provável que o rendimento da reação não tenha sido 100% e, portanto, resíduos dos homopolímeros de partida estejam presentes no copolímero.

Figura 4.12 – Espectros de FTIR dos homopolímeros iniciais, PNVCL-COOH e mPEG-OH, e dos copolímeros obtidos nas reações B13 (A) e B14 (B).



Fonte: Próprio autor.

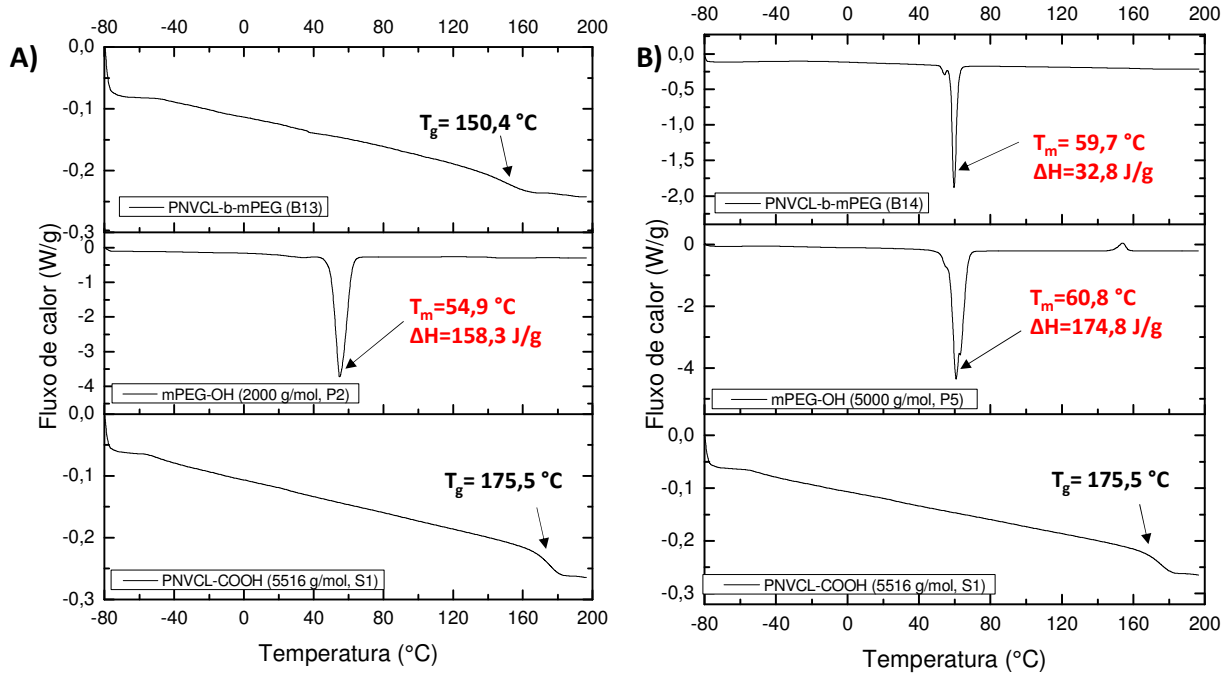
Kozanoglu et al. (2011) e Spevacek et al. 2012 sintetizaram PNVCL, por polimerização via radicais livres, utilizando AIBN como iniciador, e sem agente de transferência de cadeia. Os polímeros obtidos pelos autores não apresentavam grupos OH na extremidade das cadeias, como é o caso dos homopolímeros (PNVCL-COOH) sintetizados no presente trabalho. Mesmo assim, os espectros de FTIR obtidos por estes autores, mostravam sempre uma absorção característica da função OH, em 3500 cm^{-1}. Os autores justificaram esta banda como sendo proveniente da absorção de umidade pelo polímero. Nos

trabalhos de Liu et al. (2014), que sintetizaram um polímero em bloco constituído de PNVCL-b-PEG utilizando as técnicas RAFT e Hurtgen et al. (2011), que elaboraram copolímeros de PVAc-b-PNVCL empregando a técnica de CMRP (polimerização radicalar mediada por cobalto, “cobalt-mediated radical polymerization”) também foi possível identificar uma absorção em 3500 cm^{-1} nos respectivos espectros de FTIR, porém os autores não justificaram este resultado.

Nos espectros dos produtos das reações B13 e B14, pode se observar as bandas da ligação C=O do anel caprolactama em 1640 cm^{-1}, a deformação axial do grupo C-O e C-N em 1250 e 1260 cm^{-1} respectivamente, provenientes da PNVCL e a deformação provocada pelo grupo C-O-C, em 1110 cm^{-1}, derivada dos blocos de mPEG. A carbonila de ácido carboxílico, presente na PNVCL-COOH, apresenta uma banda em 1630 cm^{-1}, diferente da carbonila de éster, situado em torno de 1720 cm^{-1}. No caso dos copolímeros obtido nas reação B13 e B14, é possível identificar a banda de éster, mesmo que de forma discreta.

Os copolímeros em bloco foram caracterizados por DSC e os resultados estão apresentados na Figura 4.13. A Figura 4.13 (A) apresenta o termograma referente ao copolímero obtido na reação B13 e (B) para o copolímero obtido no experimento B14, juntamente com os homopolímeros de partida. Os termogramas apresentados na Figura 4.13 são os obtidos no segundo ciclo de aquecimento. A primeira corrida foi realizada para remoção do histórico térmico da amostra e utilizou-se as mesmas condições de análise para a segunda corrida (-80 a 200°C, 10°C/min).

Figura 4.13 – Termogramas de DSC referentes ao segundo aquecimento dos homopolímeros de partida e dos copolímeros, PNVCL-b-mPEG, obtidos nas reações B13 (A) e B14 (B).



Fonte: Próprio autor

Analisando o termograma de DSC do homopolímero de PNVCL-COOH inicial, é possível identificar uma transição vítrea (T_g) em 175,5°C. A temperatura de transição vítrea da PNVCL é fortemente influenciada pela presença de moléculas de água como reportado por Liu et al. (2014). De acordo com os autores as moléculas de água funcionam como um plastificante e a T_g da PNVCL pode variar de 147°C (polímero seco) a -17°C dependendo do teor de umidade na amostra. Boyko (2004) encontrou um valor de T_g de 191°C para um microgel de PNVCL, e segundo os autores este valor seria aceitável, visto que a água não é facilmente removida das cadeias de PNVCL e, no estudo deste grupo, a PNVCL foi submetida a um processo de secagem a 225 °C, antes das análises térmicas. Assim, o valor de T_g=175,5 °C, encontrado neste trabalho, está próximo dos valores reportados na literatura (LIU et al., 2014; BOYKO, 2004; MEEUSSEN et al., 2000; KIRSH; YANULA; KALNINSH, 1999). A ausência de ponto de fusão, nesta faixa de temperatura analisada, caracteriza a PNVCL como um polímero amorfo (BOYKO 2004). Os valores de temperatura de fusão dos homopolímeros,

mPEG-OH, de massas molares de 2000 e 5000 g/mol também estão de acordo com os valores encontrados na literatura (GINÉS et al., 1996; PIELICHOWSKI; FLEJTUCH, 2002). Entretanto, não foram observadas as transições vítreas correspondentes ao bloco de mPEG-OH, nos termogramas do homopolímero de 2000 g/mol e 5000 g/mol e do copolímero, localizados em torno de - 60°C (OLABISI; ADEWALE, 2015). A partir dos resultados de entalpia de fusão obtidos por DSC pode se calcular o grau de cristalinidade (X_c) do mPEG, de acordo com a equação (10), onde ΔH_m= calor de fusão do mPEG analisado e ΔH_m^0= calor de fusão do mPEG 100% cristalino, cujo valor é 196,8 J/g (PIELICHOWSKI; FLEJTUCH, 2002). A Tabela 4.5 resume os resultados obtidos por DSC.

$$X_c(\%) = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^0} x100 \qquad .....(10)$$

Tabela 4.5 – Caracterização térmica por DSC, dos homopolímeros de partida e dos copolímeros, PNVCL-b-mPEG, obtidos nas reações B13 e B14.

Polímero	T_g (°C)	T_m (°C)	ΔH_m(J/g)	X_c (%)
$PNVCL_{5516}$-COOH	175,5	nd	nd	*
$mPEG_{2000}$-OH	nd	54,9	158,3	80,4
$mPEG_{5000}$-OH	nd	60,8	174,8	88,8
$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2000}$ (B13)	150,4	nd	nd	*
$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{5000}$(B14)	nd	59,7	32,8	16,7

nd = não determinado

Fonte: Próprio autor.

Os termogramas dos copolímeros mostram diferentes resultados entre o copolímero em bloco sintetizado com mPEG-OH de 2000 e 5000 Da. No caso do copolímero com mPEG-OH de menor massa molar (reação B13, PNVCL-b-mPEG), identificou-se uma temperatura de transição vítrea em torno de 150 °C, que foi atribuída ao bloco de PNVCL, porém a uma temperatura inferior à da PNVCL-COOH inicial (T_g=175,5°C). Isto é um indicativo de que os blocos de PNVCL e mPEG, possuem regiões amorfas miscíveis (DRUMOND; WANG 2004). Nenhum pico endotérmico foi observado no termograma do copolímero, o que indica que o bloco de mPEG encontra-se em um estado amorfo, diferentemente do homopolímero original. Esta alteração no estado físico do bloco de mPEG é um indicativo de que houve a formação do copolímero em bloco, na reação B13.

Já no caso do copolímero sintetizado com mPEG-OH de maior massa molar (reação B14, PNVCL-b-mPEG) um resultado diferente foi obtido. O copolímero apresentou um pico endotérmico em T_m=59,7°C, correspondente ao bloco de mPEG, e nenhuma temperatura de transição vítrea foi observada. A entalpia de fusão no copolímero (ΔH=32,8 J/g) foi menor do que no homopolímero de mPEG (ΔH=174,8 J/g), consequentemente, a cristalinidade do bloco de mPEG reduziu de 88% para 16%. Provavelmente, a ligação química entre o mPEG com o bloco de PNVCL resultou na redução da taxa de cristalinidade do poli(etileno glicol). Em suma, o copolímero em bloco obtido na reação B13 (PNVCL-b-mPEG) apresenta características de material amorfo enquanto que o produto da reação B14 (PNVCL-b-mPEG) apresenta propriedades de material semicristalino.

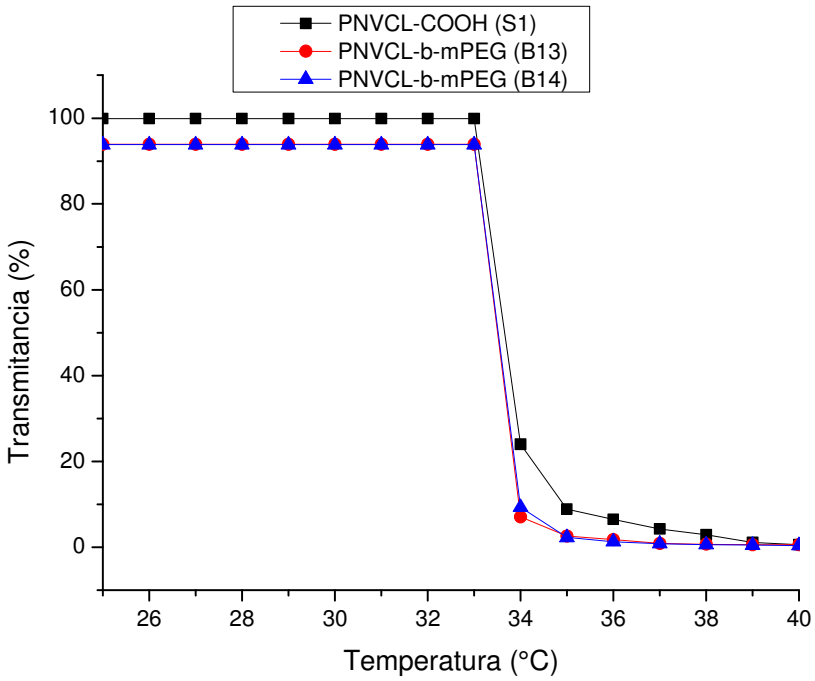
4.1.3. Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST)

A determinação da LCST da PNVCL-COOH, obtida na reação S1 (5516 g/mol, Đ=1,37) e dos copolímeros em bloco obtidos a partir deste homopolímero foi realiza pela técnica de UV/vis, no modo de transmitância, à 570 nm e na concentração de 5 g/L. A Figura 4.14 mostra a variação da transmitância em função da temperatura para o homopolímero de PNVCL-COOH e dos copolímeros em bloco, PNVCL-b-mPEG, obtidos nas reações B13 e B14.

A sensibilidade à temperatura de homopolímeros e copolímeros constituídos de NVCL já foi muito explorada e extensamente relatada na literatura. Sabe-se que a incorporação de comonômeros hidrofílicos em cadeias de PNVCL aumenta a sua LCST, enquanto a incorporação de comonômeros hidrofóbicos conduz à uma diminuição da LCST (WANG; TANG; WU, 2015; GIL; HUDSON, 2004). Porém, esta variação na LCST, em geral, é pouco significativa quando se analisa a incorporação de um bloco hidrofílico na cadeia de PNVCL, como reportado por Laukkanen et. al. (2005). Nas curvas mostradas na Figura 4.14, observa-se que a incorporação do bloco de mPEG na cadeia de PNVCL, não teve nenhum efeito na LCST dos copolímeros finais, se comparados os valores obtidos

para os copolímeros, com o valor obtido para o homopolímero, PNVCL-COOH (Figura 4.14). Possivelmente a alteração na temperatura de transição foi muito pequena e a técnica empregada para a determinação da LCST não foi capaz de detectar. Além disso, a presença de resíduos de homopolímero, PNVCL, pode ter interferido nos resultados.

Figura 4.14 – Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) do homopolímero, PNVCL-COOH, obtido na reação S1 (5516 g/mol, Đ=1,37) e dos copolímeros em bloco, PNVCL-b-mPEG, obtidos nas reações B13 e B14.



Fonte: Próprio Autor

Com base nos resultados das caracterizações por GPC, RMN ^{1}H, FTIR, DSC e LCST, é possível concluir que houve a formação dos copolímeros em bloco, tanto na reação B13 quanto na B14.

4.2. Síntese do copolímero em bloco, mPEG-b-PNVCL, via Polimerização Radicalar por Desativação Reversível (RDRP), tipo RAFT/MADIX

Uma segunda alternativa avaliada neste trabalho, para a elaboração dos copolímeros em bloco foi a Polimerização Radicalar por Desativação Reversível (RDRP) do tipo RAFT/MADIX. Para isto, foi inicialmente sintetizado um macroagente de transferência de cadeia do tipo xantado, à base de mPEG, de duas massas molares diferentes: 2000 e 5000 Da. Os resultados referentes a estas sínteses estão apresentados e discutidos em 4.2.1. Em seguida, realizou-se as reações de extensão de cadeia utilizando a NVCL como monômero, AIBN como iniciador e o mPEG-*o*EX, como macroagente de transferência de cadeia (macroagenteRAFT). Nesta etapa do projeto, foram estudados como parâmetros de reação, aqueles que são muito específicos para este mecanismo de polimerização, ou seja, as razões molares, [Monômero]/[macroagenteRAFT] e [macroagenteRAFT]/[Iniciador].

4.2.1. Síntese do macroagente de transferência de cadeia, (mPEG-oEX).

As sínteses dos macroagentes de transferência de cadeia do tipo xantato, a base de mPEG foram realizadas em duas etapas. Primeiramente, o PEG monohidroxilado (mPEG-OH) foi funcionalizado via a reação de bromação com o brometo de 2-bromopropionila (BPB), gerando um intermediário mPEG-Br. Posteriormente, o poli(etileno glicol)-*o*-etil-xantato (mPEG-*o*EX) foi obtido pela reação de substituição entre o mPEG bromado (mPEG-Br) e o xantogenato etílico de potássio (KEX). A massa molar ($\overline{M}_n$) e a dispersidade (Đ), obtidos por GPC, de todos os derivados de mPEG-OH envolvidos nestas sínteses estão apresentados na Tabela 4.6. Os respectivos cromatogramas estão apresentados na Figura 4.15.

Tabela 4.6 – Massa molar numérica média ($\bar{M}_n$) e dispersidade (Đ), determinados por GPC, em THF, dos derivados de mPEG-OH, obtidos após as reações de substituição.

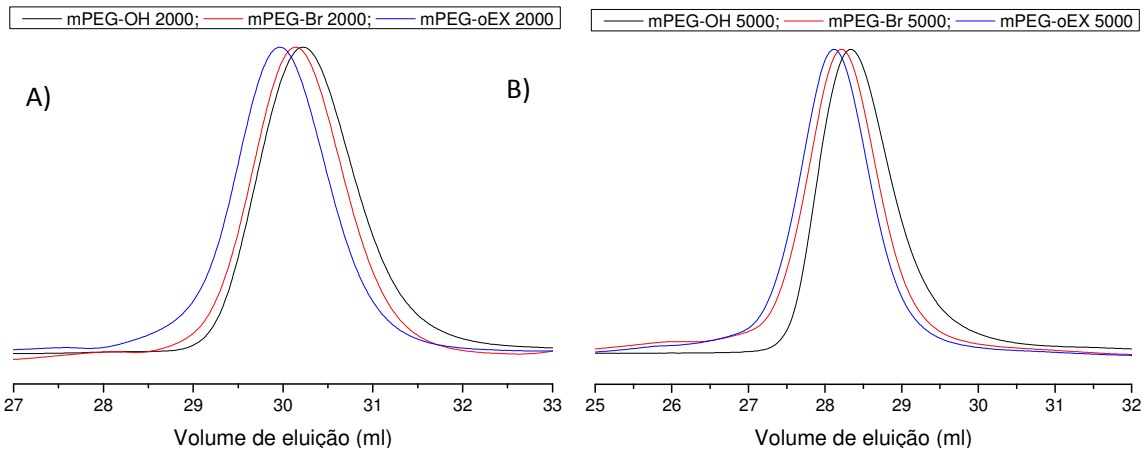
	$\bar{M}_n$ *	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$	$\bar{M}_n$ **	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$
mPEG-OH	2423	1,09	7871	1,08
mPEG-Br	2544	1,12	7541	1,09
mPEG-*o*EX	2868	1,14	7888	1,16

*mPEG-OH 2000 g/mol (Mn indicada pelo fornecedor);

** mPEG-OH 5000 g/mol (Mn indicada pelo fornecedor)

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.15 – Cromatogramas de GPC (THF) dos reagentes utilizados nas sínteses (mPEG-OH), dos intermediários obtidos (mPEG-Br) e dos produtos finais das reações (mPEG-*o*EX).



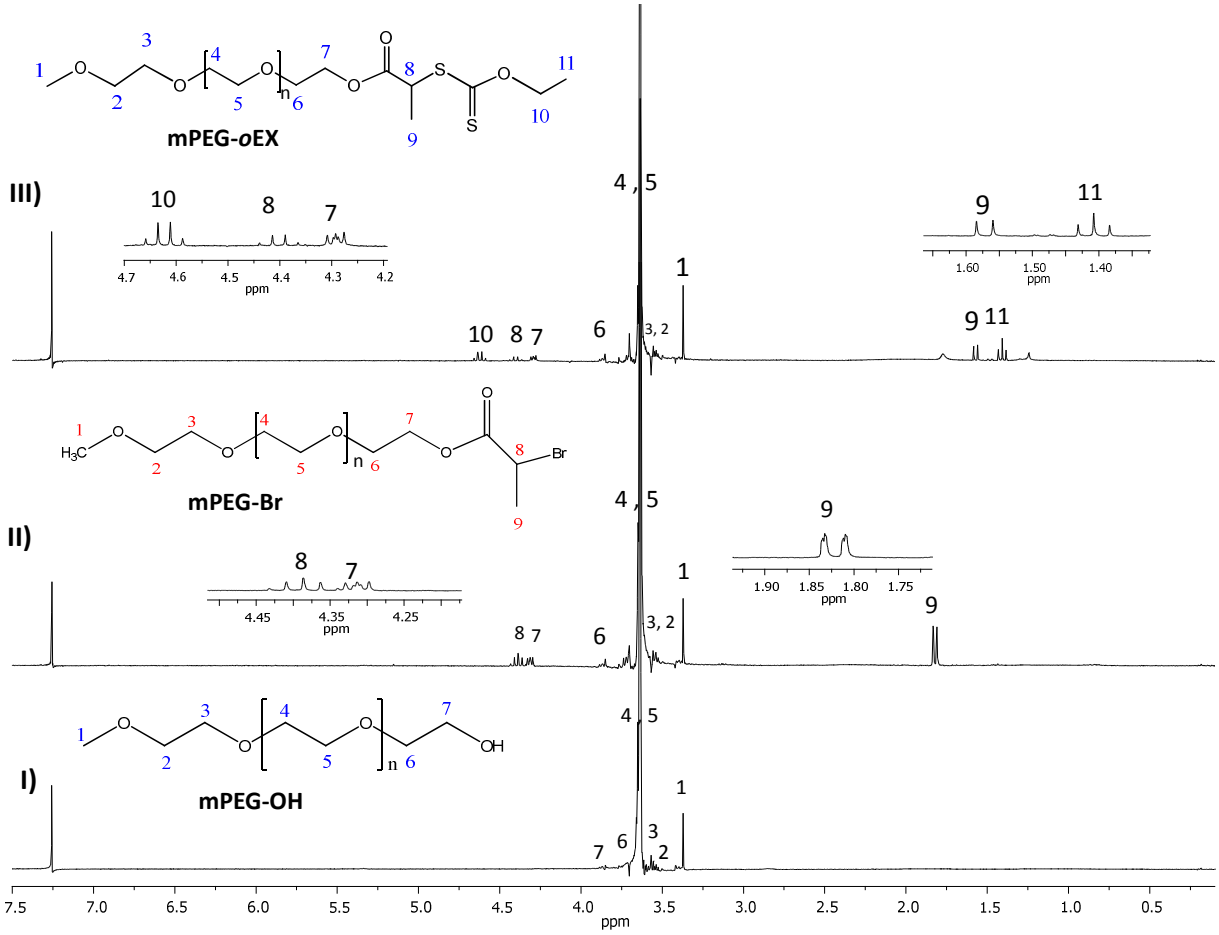
A) mPEG-OH de 2000 g/mol (Mn indicada pelo fornecedor); B) mPEG-OH de 5000 g/mol (Mn indicada pelo fornecedor).

Fonte: Próprio autor.

Observou-se que o produto intermediário (mPEG-Br) e o macroagenteRAFT final (mPEG-*o*EX) apresentaram um ligeiro aumento na massa molar média e na dispersidade. Resultado similar foi reportado por Liu et al. (2014), para a síntese deste mesmo macroagenteRAFT e utilizando a mesma rota sintética. Este aumento discreto de massa molar poderia ser explicado pelo possível fracionamento do produto final durante a etapa de sua purificação, podendo ocorrer a separação de algumas cadeias poliméricas de menor massa

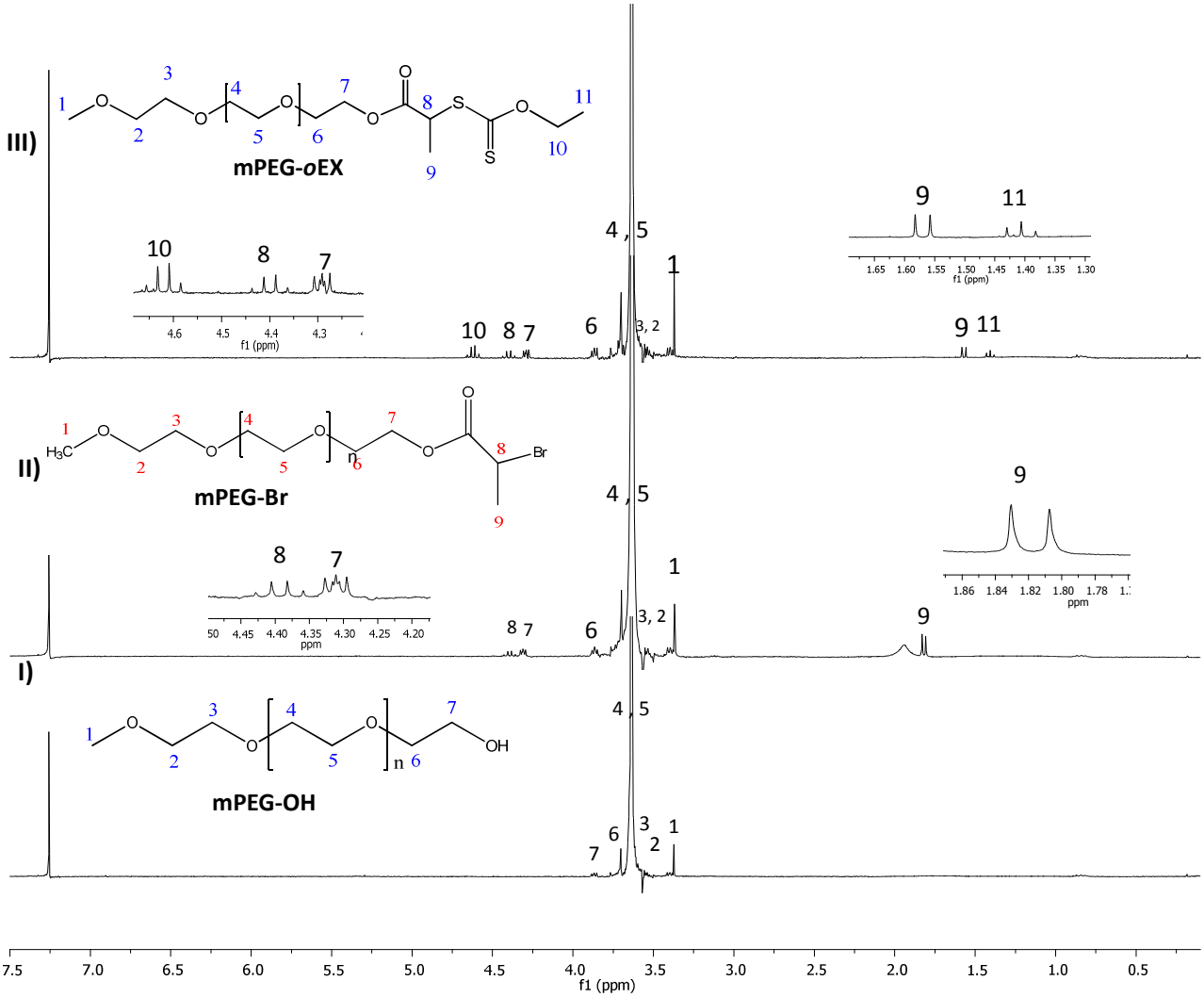
molar. Os materiais obtidos após a reação de bromação do mPEG-OH, assim como os produtos da reação do mPEG-Br com o KEX foram analisados pela técnica de RMN ^{1}H com o objetivo de avaliar a conversão das hidroxilas terminais da cadeia de mPEG-OH em grupos 2-bromopropionil e estes em *o*-etil xantato. A Figura 4.16, apresenta os espectros de RMN ^{1}H do mPEG-Br e do mPEG-*o*EX, obtidos a partir do mPEG-OH, de massa molar de 2000 Da, enquanto a Figura 4.17, apresenta o espectro de RMN^1 H dos derivados do mPEG-OH 5000 Da.

Figura 4.16– Espectro de RMN de ^{1}H em $CDCl_3$ do mPEG-OH de partida (I), mPEG-Br intermediário (II) e do macroagenteRAFT, mPEG-*o*EX (III). A) Reações utilizando o mPEG-OH de 2000 Da.



Fonte: Próprio autor.

Figura 4.17– Espectro de RMN de ¹H em $CDCl_3$ do mPEG-OH de partida (I), mPEG-Br intermediário (II) e do macroagenteRAFT, mPEG-*o*EX (III). A) Reações utilizando o mPEG-OH de 5000 Da.



Fonte: Próprio autor.

Atribuição dos deslocamento observados nos espetros de RMN ¹H: (I) mPEG-OH: δ=3,37 ppm (s, 3H, –CH3O-, **1**); 3,50 – 3,70 ppm (m, 4H, -OCH2CH2-, **2,3,4,5,6**); 3,87 ppm (t, 2H, -CH2CH2-OH-, **7**); (II) mPEG-Br: δ= idem mPEG-OH, acrescido de 4,31 ppm (t, 2H, -CH2OC=O, **7**); 4,39 ppm (q, 1H, -CH(CH3)Br, **8**); 1,82 ppm (d, 3H, -CH(CH3)Br, **9**); (III) mPEG-oEX δ= idem mPEG-Br, porém com 1,57 ppm (d, 3H, -CH(CH3)S-, **9**); 4,62 ppm (q, 2H, -OCH2CH3, **10**); 1,40 ppm (t, 3H, -CH2CH3, **11**).

Nos espectros apresentados nas Figuras 4.16 e 4.17, é possível observar os deslocamentos dos picos correspondentes aos prótons identificados por “7” do mPEG-OH (I), tanto da Figura 4.16 quanto da Figura 4.17, de 3,87 ppm para aproximadamente 4,31 ppm, para o mPEG-Br (II) (Figuras 4.16 e 4.17), e ainda o aparecimento de dois novos picos em aproximadamente 4,39 ppm (1H, -CH(CH3)Br, **8**) e 1,82 ppm (3H, -CH(CH3)Br, **9**) do grupo 2-bromopropionil. Estes resultados indicam o sucesso na modificação química das extremidades das cadeias do mPEG-OH, com a consequente incorporação do halogênio, Br, de maneira quantitativa, que é fundamental para se garantir o sucesso na segunda etapa da reação. Estes resultados corroboram aqueles encontrados na literatura e confirmam a eficiência desta rota sintética para a síntese de macroagentesRAFT (LIU et al., 2014; ZHAO et al., 2014; JEON et al., 2008).

Comparando os espectros II e III, da Figura 4.16, pode-se verificar o aparecimento de dois novos picos em 4,62 ppm (2H, -OCH2CH3, **10**) atribuído aos prótons do grupo metileno do grupo *o*-etil xantogenato e em 1,40 ppm (t, 3H, -CH2CH3, **11**) correspondente aos prótons do grupo metila terminal do o-etil xantogenato. Além disso, houve um deslocamento do pico correspondente aos prótons metil do grupo 2-bromopropionil (3H, -CH(CH3)-, **9**) de 1,82 ppm para 1,57 ppm. Estes deslocamentos também foram observados na Figura 4.17, referente ao macroagenteRAFT de 5000 Da. Tais resultados são indícios de que a reação foi bem sucedida. Estes macroagentes de transferência de cadeia foram utilizados nas reações de extensão de cadeia, via mecanismo RAFT, para a obtenção dos copolímeros em bloco, mPEG-b-PNVCL, com massa molar controlada.

4.2.2. Síntese do copolímero em bloco de mPEG-b-PNVCL via reações RAFT/MADIX

Após as sínteses dos macroagentes de transferência de cadeia à base de mPEG (mPEG-*o*EX), iniciou-se um estudo preliminar das reações de extensão de cadeia com NVCL avaliando alguns parâmetros de síntese como a razão molar [monômero]/[macroagenteRAFT] e [iniciador]/[macroagenteRAFT]. O objetivo nesta etapa do projeto foi sintetizar copolímeros em bloco, com controle da massa molar do copolímero e, consequentemente, com baixa dispersidade. Assim, o primeiro estudo realizado foi uma avaliação da eficiência do mPEG-*o*EX no controle da polimerização da NVCL, na obtenção de copolímeros com massa molar controlada e baixos valores de Đ. Na Tabela 4.7 estão apresentados os resultados de massa molar e dispersidade, obtidos por GPC. A Figura 4.18 ilustra os cromatogramas de GPC de todos os produtos das reações de extensão de cadeia, conduzidas na presença dos macroagentesRAFT, mPEG-oEX, de massas molares de 2000 (A) e 5000 (B) g/mol.

Tabela 4.7 – Resultados de massa molar M_n e dispersidade (Đ), determinados por GPC, em THF, dos materiais obtidos nas reações de polimerização da NVCL, utilizando como agente de controle, mPEG-oEX, de massas molares experimentais (GPC) de 2868 g/mol e 7888 g/mol

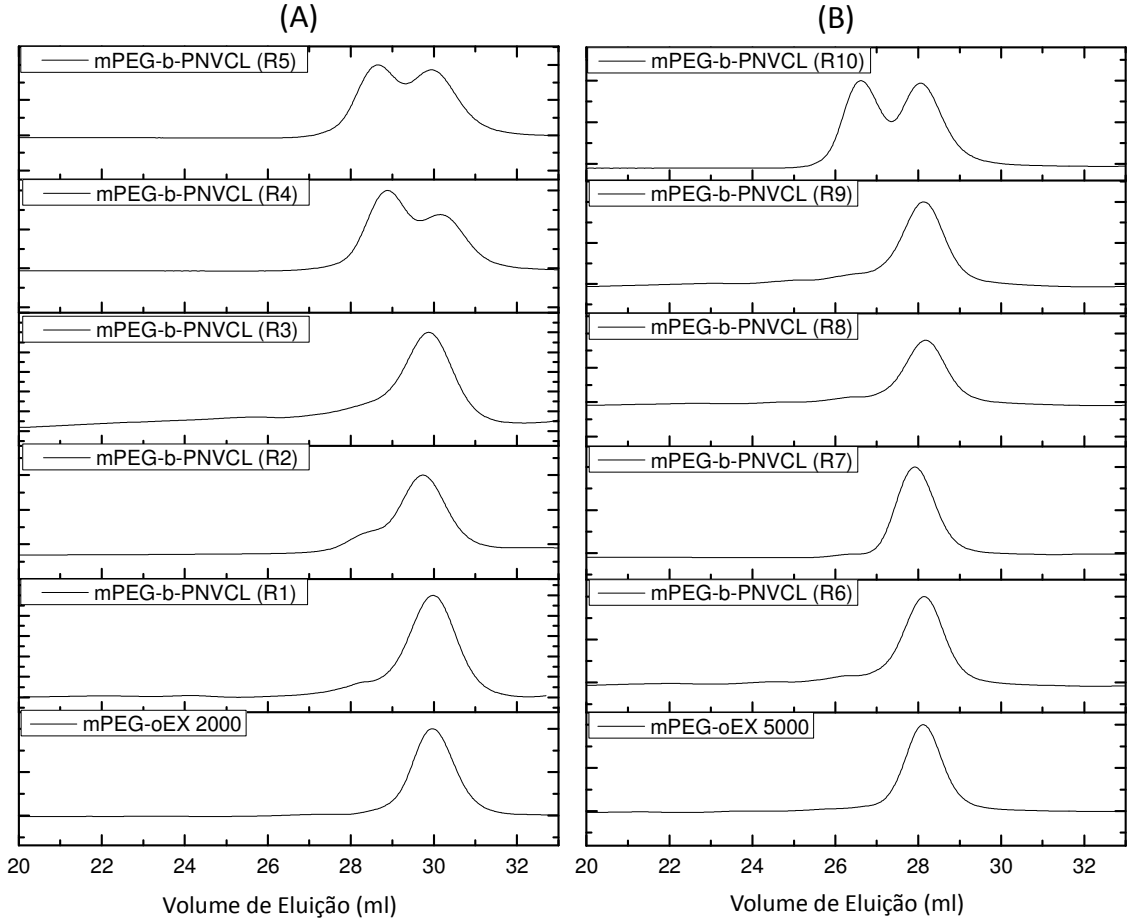
Reação	Razão NVCL:AIBN:mPEG-*o*EX (mol)	mPEG-*o*EX (g/mol)	Conversão[a] (%)	$\overline{M_n}_{Teórico}$ [b] (g/mol)	$\overline{M_n}_{GPC}$ (g/mol)	Đ
R1	100:0,2:1	2868	5,8	3675	3093	1,22
R2	150:0,2:1	2868	12,5	5478	3684	1,17
R3	200:0,2:1	2868	19,4	8269	3407	1,25
R4	100:0,3:1	2868	18,8	5485	nd	nd
R5	150:0,3:1	2868	17,7	6563	nd	nd
R6	100:0,2:1	7888	3,2	8333	8458	1,26
R7	150:0,2:1	7888	9,8	9934	9051	1,08
R8	200:0,2:1	7888	19,9	13428	8121	1,24
R9	100:0,3:1	7888	17,3	10296	8538	1,24
R10	150:0,3:1	7888	67,9	22065	nd	nd

[b] A conversão foi calculada pela técnica de RMN ^{1}H.

[a]$=\overline{M_n}_{Teórico} = \frac{[NVCL]_0}{[mPEG-oEX]_0} . f . MM_{NVCL} + \overline{M_n}_{mPEG-oEX}$. Onde: $\frac{[NVCL]_0}{[mPEG-oEX]_0}$= Razão Monômero/mCTA = 100, 150 ou 200; f = conversão de monômero ; MM_{NVCL} = Massa molar da NVCL (139,1 g/mol); $\overline{M_n}_{mPEG-oEX}$= Massa molar média do macroagenteRAFT determinada por GPC (2868 ou 7888 g/mol). nd = não determinado;

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.18 – Cromatogramas de GPC dos materiais obtidos nas reações de polimerização da NVCL, utilizando como agente de controle, mPEG-oEX, de massas molares experimentais (GPC) de 2868 g/mol (A) e 7888 g/mol (B)



Fonte: Próprio autor.

Os produtos das reações de polimerização, conduzidas na presença do mPEG-oEX de massa molar igual a 2000 g/mol (R1, R2, R3), apresentados na Tabela 4.7, não apresentaram um aumento significativo de massa molar. As massas molares obtidas ficaram entre 3000 e 3400 g/mol, valores bem inferiores aos valores que eram esperados comparando com a massa molar teórica, determinado considerando a conversão de monômero em cada reação. O aumento pouco significativo da massa molar, nesta etapa, pode ter ocorrido de modo similar ao ocorrido durante as síntese do macroagente RAFT, ou seja, algumas cadeias de baixa massa molar podem ter sido eliminadas durante a etapa de purificação do copolímero em bloco. Portanto, este pequeno incremento na massa molar pode não ser atribuído à formação do copolímero em bloco. Além disso, foi observado um aumento na dispersidade dos produtos das reações R1,

R2 e R3, quando comparado com o valor obtido para o macroagenteRAFT, mPEG-oEX. Analisando os resultados obtidos por GPC, pode se afirmar que as condições experimentais utilizadas nas reações R1, R2 e R3 não foram as ideais para sintetizar o copolímero em bloco. Assim, outras duas formulações foram preparadas aumentando a razão [AIBN]/[macroagenteRAFT] de 0,2 para 0,3 (reações R4 e R5). Os copolímeros obtidos nestes experimentos apresentaram uma curva de distribuição de massa molar bimodal, como pode ser visualizada pela Figura 4.18 A. A formação de duas populações de polímeros com massas molares distintas, pode ser devido a formação de homopolímeros de PNVCL, via mecanismo de polimerização radicalar convencional, devido ao aumento na quantidade de AIBN nas reações. Outra hipótese, é de que a população de menor massa molar, correspondente ao macroagenteRAFT residual, que não foi ativado. Porém estas hipótese necessitam de futuras investigações. A conversão de monômeros foi inferior a 20% na maioria das reações. Um resultado similar foi obtido por Liu et al. (2014), que sintetizaram copolímeros em bloco de PNVCL-b-mPEG, via mecanismo RAFT. Os valores de conversão de monômero reportado pelo grupo, nestas reações, ficaram em torno de 30%. Nas condições de síntese estudadas utilizando o mPEG-oEX de 2000 g/mol, tanto o aumento na razão NVCL/mPEG-oEX, quanto na razão AIBN/mPEG-oEX não foram capazes de conduzir à formação do copolímero em bloco.

Resultados similares foram obtidos com o segundo macroagenteRAFT utilizado (mPEG-oEX 5000 g/mol). O único resultado distinto foi o obtido na reação R10, onde uma alta conversão de monômero (67,9%) foi observada. Porém, o perfil da curva de distribuição de massa molar apresentado pelo produto desta reação, não condiz com o perfil ideal de uma polimerização radicalar controlada. Este resultado indica que a polimerização não ocorreu pelo mecanismo RAFT, levando à formação de cadeias mortas ou de homopolímeros de PNVCL. Aparentemente, ao se utilizar uma maior quantidade de iniciador (razão AIBN/mPEG-oEX de 0,3) gerou-se uma quantidade significativa de radicais no meio reacional, o que pode ter conduzido a um desequilíbrio na cinética de adição e fragmentação do mecanismo RAFT e isto favoreceu a formação de cadeias mortas.

As condições experimentais, tais como temperatura e tempo de reação, razão [AIBN]/[mPEG-oEX], [NVCL/]/[mPEG-oEX], e o volume de solvente, não foram as ideais para a síntese deste copolímero. Além disso, a N-vinilcaprolactama é um monômero não conjugado, assim, o controle das reações de polimerização deste tipo de monômero geralmente é complicado devido à alta reatividade dos radicais gerados (NAKABAYASHI; MORI, 2013). Portanto, seria necessário um estudo complementar para encontrar as condições experimentais ideais para a polimerização da NVCL pelo mecanismo de Polimerização Radicalar por Desativação Reversível (RDRP) do tipo RAFT/MADIX.

Como pode ser observado pelos resultados obtidos, a síntese de copolímeros em bloco, via mecanismo de polimerização do tipo RAFT, não é trivial. Portanto, em função dos resultados obtidos via acoplamento, e as dificuldades das RDRPs, referente à produção de polímero em maiores quantidades, optou-se por dar sequência ao trabalho, utilizando os copolímeros em bloco obtidos via acoplamento, especificamente os obtidos nas reações B13, $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$, e B14, $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$.

4.3. Preparação das nanopartículas utilizando a técnica de secagem por atomização (“spray drying”)

É objetivo, deste projeto de mestrado, desenvolver um copolímero em bloco com propriedades termossensíveis para ser aplicado como matriz polimérica na encapsulação do princípio ativo cetoprofeno, empregando a técnica de secagem por atomização para elaboração das nanopartículas visando aumentar a sua solubilidade e, consequentemente, a biodisponibilidade em aplicações biomédicas. Assim, após a síntese dos copolímeros por acoplamento iniciou-se a etapa de desenvolvimento das partículas utilizando o Nano Spray Dryer B-90 fabricado pela Büchi.

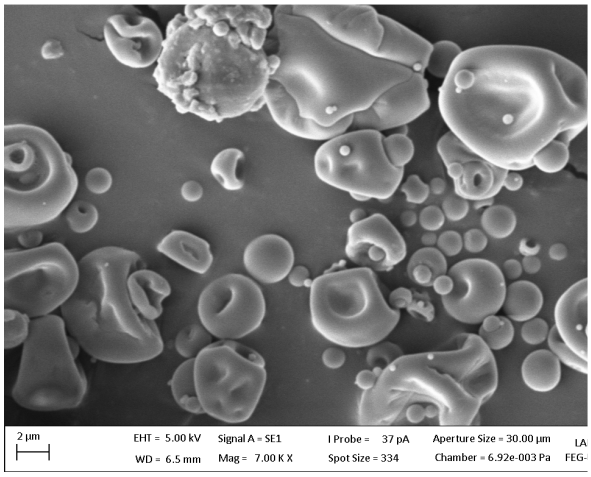
4.3.1. Otimização do processo de secagem por atomização

Um estudo preliminar foi realizado para determinar a melhor condição para o processo de atomização que conduza à formação de partícula com boa homogeneidade e polidispersidade. Este estudo foi realizado utilizando o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$, obtido pela reação de acoplamento B13. Utilizou-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliar qualitativamente a morfologia das partículas.

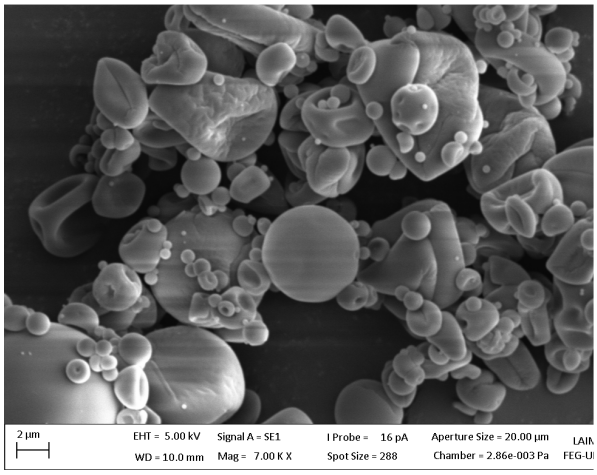
A Tabela 3.7, apresenta as condições de atomização que foram avaliadas, como o tipo de solvente e a concentração em massa do copolímero. Os solventes utilizados foram a água e o etanol e as concentrações testadas foram 1,0, 0,5 e 0,1% (m/v), que se referem aos experimentos B13_NSD01, B13_NSD02, B13_NSD03, B13_NSD04, B13_NSD05 e B13_NSD06. Nestes experimentos iniciais, observou-se que os parâmetros estudados influenciaram diretamente na formação das partículas como pode ser visto nas Figuras 4.19.

A escolha do solvente adequado é um pré-requisito importante que interfere diretamente nas propriedades finais das partículas (PAUDEL et al., 2013). De acordo com Paudel et al. (2013) os critérios primários para a escolha do solvente incluem: (i) alta solubilidade da droga e do carreador no solvente selecionado; (ii) geração de uma solução de alimentação com viscosidade adequada; (iii) baixa toxicidade; (iv) alta volatilidade para uma fácil evaporação do solvente durante a secagem das gotículas; (v) promover estabilidade química aos componentes na solução de alimentação. A morfologia e a densidade das partículas finais são diretamente influenciadas pela taxa de evaporação e o coeficiente de difusão do solvente (PAUDEL et al., 2013), assim, era esperado que os experimentos realizados com etanol, como solvente, apresentassem os melhores resultados em termos de morfologia, devido à maior volatilidade comparado com a da água, porém, este não foi o fator mais importante como será discutido a seguir.

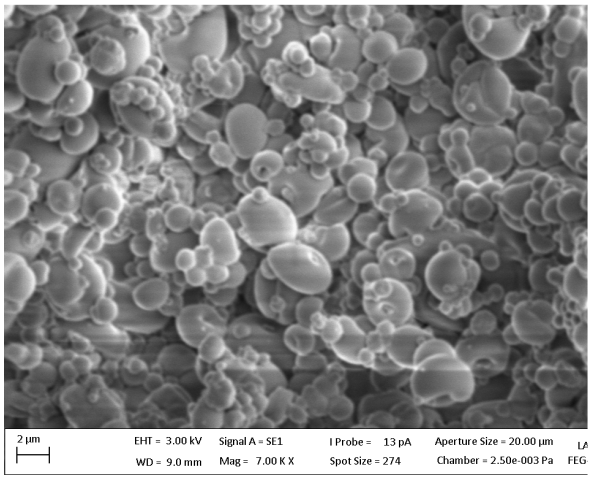
Figura 4.19 – Micrografia de MEV das partículas obtidas nos experimentos B13_NSD01 (A), B13_NSD03 (B), B13_NSD05 (C) e B13_NSD06 (D).



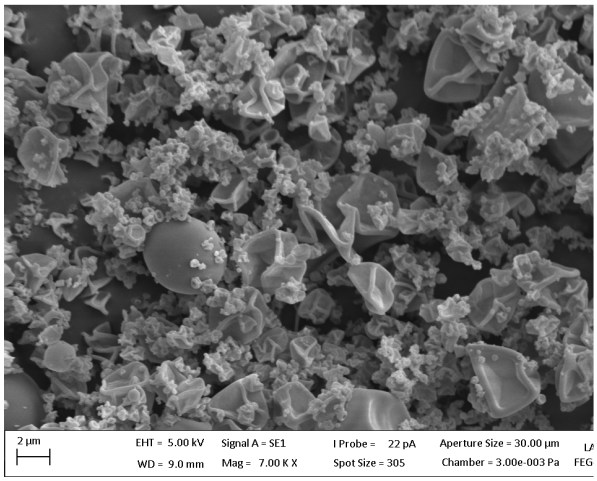
B13_NSD01 (A) Magnitude 7000x



B13_NSD03 (B) Magnitude 7000x



B13_NSD05 (C) Magnitude 7000x



B13_NSD06 (D) Magnitude 7000x

Fonte: Próprio autor.

Quando se utilizou água como solvente, não foram obtidos partículas nos experimentos B13_NSD02 e B13_NSD04, devido ao entupimento da membrana do bico atomizador durante o processo de secagem. Este entupimento ocorreu devido a uma elevação na temperatura da solução de alimentação, para valores acima da LCST do copolímero, promovendo a agregação das partículas durante o processo de atomização. Em um típico processo de secagem por atomização, um determinado volume da solução de alimentação é bombeada para o bico de atomização e uma parte é aspergida através da membrana do

atomizador e a outra fração retorna ao béquer, fazendo com que a solução permaneça em constante refluxo. Visto que o bico atomizador fica em contato com o gás de secagem, a 110°C, na câmara de atomização, este promove o aquecimento da solução que fica retida, que ao retornar ao béquer, dissipa o calor provocando o aquecimento da solução de alimentação para temperatura em torno de 45°C o que, neste caso, favorece a hidrofobicidade da PNVCL dando origem a uma suspensão. As altas concentrações dos copolímeros na solução de alimentação (1,0 e 0,5% (m/v)), favoreceram a formação de agregados que, ao serem bombeados até o bico de atomização, se depositaram na membrana, ocasionando seu entupimento e cessando o processo de atomização. Contudo, quando se utilizou a concentração de 0,1 %m/v (B13_NSD06), o processo de atomização ocorreu naturalmente e não houve entupimento. Provavelmente, por estar diluído, os agregados poliméricos formados apresentam um diâmetro menor e, por isso, foram aspergidos ininterruptamente.

Além desses problemas, outro fator também foi determinante para a limitação da utilização de água como solvente. As partículas obtidas no experimento B13_NSD06 (utilizando água como solvente a 0,1 %m/v), apresentaram morfologia e tamanho heterogêneos com a formação de poucas partículas esféricas (Figura 4.19 D). Conforme mencionando anteriormente, a solução de entrada tende a aumentar de temperatura durante o processo de atomização para valores acima da LCST da PNVCL. Possivelmente, durante este aquecimento houve a formação de micelas com uma quantidade significativa de água no interior das mesmas que, quando atomizadas, são evaporadas devido ao contato com o gás de secagem e isto pode ter levado a formação de partículas aparentemente “murchas”.

Gue et al. (2015) encapsularam cetoprofeno utilizando um Mini Spray Dryer B-290, Büchi, em matrizes de hidroxipropil metil celulose (HPMC) utilizando proporções diferentes de uma mistura água/etanol como solvente. Os autores estudaram dois sistemas diferentes: cetoprofeno em suspenção, utilizando as razões 90/10 e 80/20 (água/etanol) e cetoprofeno em solução, utilizando-se a razão 70/30 e 50/50 (água/etanol). Os autores concluíram que uma diminuição na proporção de água na mistura água/etanol levou a formação de partículas mais

homogêneas devido, principalmente, ao estado de solubilidade dos materiais presentes na solução de entrada. Portanto, as características morfológicas apresentada neste projeto de mestrado para a partícula B13_NSD06 podem ser atribuídas à formação de micelas durante o processo de atomização.

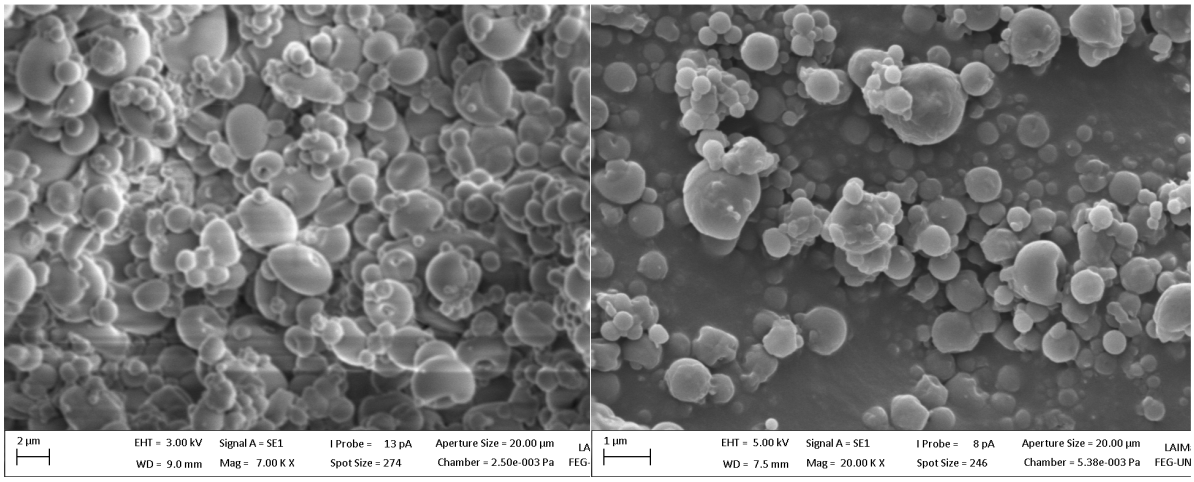
Como esperado, as melhores condições do processo de atomização para a formação das partículas, ocorreu quando se utilizou etanol como solvente e obtiveram-se partículas em todas as concentrações testadas. Nas concentrações de 1,0 e 0,5 %(m/v), houve a formação de partículas bem heterogêneas com relação ao tamanho, à morfologia e à superfície (Figura 4.19 (A) e (B)), já na solução mais diluída (0,1% m/v), as partículas apresentaram maior homogeneidade e menor diâmetro comparadas com as demais (Figura 4.19 (C)). Este desempenho era esperado, pois, o diâmetro médio das partículas, geralmente, é diretamente proporcional à concentração da solução de atomização (HARSHA et al., 2014; PAUDEL et al., 2013; ARPAGAUS, 2012). De modo geral, uma menor concentração de soluto leva à formação de partículas esféricas e menores. Além disso, já foi reportado que soluções de alimentação concentrada pode levar a formação de partículas ocas, com superfície rugosa e maior porosidade (PAUDEL et al., 2013). Este comportamento pôde ser observado nas micrografias por MEV das partículas B13_NSD01 e B13_NSD03.

A análise qualitativa dos primeiros seis experimentos (B13_NSD01 a B13_NSD06) mostraram que a melhor condição para o processo de secagem por atomização foi encontrada quando se utilizou etanol como solvente a concentração de 90,1% m/v, experimento B13_NSD05, Figura 4.19 (C). Em seguida, foi estudado o efeito da variação no tamanho da malha de atomização na morfologia final das partículas. Para isto, empregou-se a mesma condição do experimento B13_NSD05, substituindo a malha do bico atomizador de 7 para 4 µm. A Figura 4.20 apresenta a micrografia de MEV dos produtos destas atomizações.

Claramente, a diminuição no tamanho da malha de atomização, conduziu a uma diminuição no tamanho médio das partículas atomizadas. Este resultado corrobora com os dados da literatura e com o informado pelo manual do fabricante (BROICHSITTER; STREHLOW; KISSEL, 2015; ARPAGAUS et al.,

2012; LI et al., 2010). Além disso, as partículas produzidas com o bico atomizador de malha 4 µm apresentaram superfície praticamente lisa, similar à obtida pelo experimento B13_NSD05, porém bem diferente das partículas com maior concentração de soluto.

Figura 4.20 – Micrografia de MEV das partículas obtidas nos experimentos B13_NSD05 (A) e B13_NSD07 (B).



B13_NSD05 (A). Magnitude 7000x B13_NSD07 (B). Magnitude 20000x

Fonte: Próprio autor

As eficiências de recuperação (ER (%)) foram calculadas de acordo com a equação (3) e ficaram em torno de 40 a 50%. Valores similares foram reportados por Schafroth et al., 2012, utilizando PLGA como matriz polimérica e o *Nano Spray Dryer B-90* como atomizador. Não foram observados relação entre o tamanho da malha da atomização e a concentração das soluções de entrada na eficiência de recuperação (ER (%)), como apresentado na Tabela 4.8. A taxa de alimentação, que se refere ao volume de solução atomizada por unidade de tempo, apresentou valores próximos ao informado pelo fabricante 150 mL/h, para malha de 7 µm, e 20 mL/h para a malha de 4 µm. Foi verificado que este parâmetro é função, principalmente, do tamanho da malha do bico atomizador, ou seja, quanto maior a malha, maior a taxa de atomização.

Tabela 4.8 – Resultados dos cálculos de eficiência de recuperação das partículas e da taxa de alimentação da solução inicial.

Experimento	Eficiência de Recuperação (%)	Taxa de Alimentação (mL/h)
B13_NSD01	36,7	134
B13_NSD02	NA	*
B13_NSD03	52,3	139
B13_NSD04	NA	*
B13_NSD05	46,7	145
B13_NSD06	39,2	136
B13_NSD07	50,3	20

NA = Não Atomizado

Fonte: Próprio autor.

Baseado nestes resultados, adotou-se a condição experimental utilizada no experimento B13_NSD07 para realizar os ensaios de encapsulação do cetoprofeno na matriz polimérica. Esta escolha se deve, principalmente, ao tamanho e a homogeneidade das partículas obtidas, visto que o menor tamanho das partículas, conduz a uma maior área superficial, e esta é uma forma promissora de aumentar a solubilidade de drogas hidrofóbicas e melhorar a biodisponibilidade do princípio ativo para aplicações "*in vivo*" (SOSNIK; SEREMETA, 2015; ARPAGAUS et al., 2012).

4.3.2. Encapsulação do cetoprofeno nas matrizes poliméricas

O desenvolvimento de dispersões sólidas constituídas de polímero e fármaco é uma alternativa comumente empregada para melhorar a biodisponibilidade do princípio ativo (CHAN et al., 2015). O preparo de tais dispersões envolve a mistura do fármaco e do polímero carreador e pode ser feito através de diferentes técnicas (CHAN et al., 2015). Neste trabalho, preparou-se uma dispersão sólida de cetoprofeno na matriz polimérica de PNVCL-*b*-mPEG, utilizando a técnica de secagem por atomização. Foram utilizados os copolímeros: $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ (obtido na reação de acoplamento B13) e $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ (obtido na reação de acoplamento B14). A razão mássica entre

fármaco e polímero também foi variada em 30 e 50%. O Nano Spray Dryer B-90 foi operado nas mesmas condições do experimento teste realizado inicialmente (B13_NSD07). A Tabela 4.9 apresenta os resultados de eficiência de encapsulação (EE), eficiência de recuperação (ER) e teor de fármaco na amostra (TF).

Tabela 4.9 – Eficiência de encapsulação (EE) e teor de fármaco na amostra (TF), determinados pela técnica de UV/Vis, e eficiência de recuperação (ER), obtida por gravimetria.

Formulação	Copolímero	Cetoprofeno (%)	EE (%)	ER (%)	TF (%)
NPE01	$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$	30	83,6	51,3	19,3
NPE02	$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$	50	80,4	38,8	18,6
NPE03	$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$	30	90,1	48,3	30,0
NPE04	$PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$	50	88,4	61,3	29,5

EE = Eficiência de encapsulação; ER = Eficiência de Recuperação; TF = Teor de Fármaco;

Fonte: Próprio autor.

Primeiramente, observa-se que a eficiência de encapsulação (EE) foi, em geral, alta. Estes resultados corroboram com alguns previamente relatados na literatura (SOSNIK; SEREMETA, 2015) e podem ser atribuídos à alta solubilidade de todos os solutos no solvente utilizado: em geral o etanol foi um bom solvente para o cetoprofeno e para os copolímeros. Além disso, empregou-se um banho de ultrassom por 10 minutos para solubilizar completamente o polímero antes de iniciar a atomização. Como reportado por Schafroth et al. (2012) a solubilidade de todos os componentes da formulação tem uma papel fundamental na eficiência de encapsulação: caso os solutos não possuam afinidade com o solvente, uma baixa EE é esperada.

A eficiência de recuperação (ER) variou entre 38 e 61% e não observou-se uma relação definida entre os parâmetros estudados (massa molar do polímero e proporção de cetoprofeno) e a ER. Os baixos valores encontrados neste trabalho se devem, principalmente, à dificuldade de recuperação da amostra: durante os experimentos, observou-se que muitas partículas ficaram aderidas no eletrodo tipo estrela (cátodo) (Capítulo 2, Figura 2.14), localizado no centro do cilindro coletor do *spray-dryer*, que não puderam ser recuperadas.

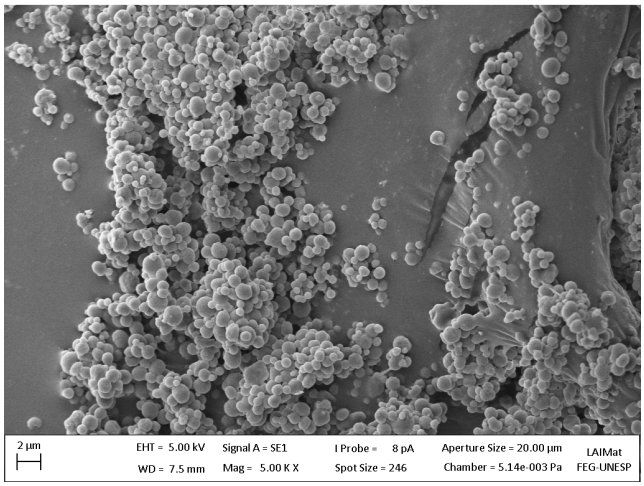
Algumas partículas também ficaram grudadas na parede da câmara de secagem, antes de chegarem ao coletor de amostras. Este problema também foi reportado por Harsha et al. (2014) e, segundo esses autores, se deve à baixa densidade de algumas partículas e poderia ser minimizado através do aumento do volume da solução atomizada. Além disso, parte do material aderido ao coletor não pôde ser retirado e algumas partículas ficaram impregnadas na espátula de recolhimento. Todos esses fatores foram determinantes para o baixo índice de recuperação obtido.

Em relação ao teor de fármaco (TF), a composição inicial na formulação apresentava TF = 23%, para os experimentos com razão cetoprofeno/copolímero igual a 30 % (m/m) (NPE01 e NPE02), e TF=33%, para os experimentos com razão cetoprofeno/copolímero igual a 50 % (NPE03 e NPE04). Assim, observamos na Tabela 4.9 que, em geral, não houve variação significativa entre o TF inicial e aquele obtido após o processo de secagem. Vale ressaltar que TF e EE estão diretamente relacionados, visto que, para uma dada composição inicial de fármaco/polímero, um baixo teor de fármaco é gerado por uma baixa eficiência de encapsulação.

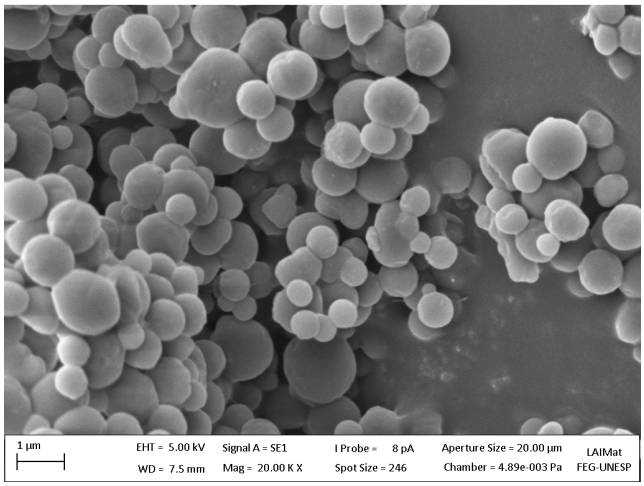
4.3.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das partículas, obtidas após o processo de secagem por atomização, foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a Figura 4.21 apresenta as micrografias dessas partículas, bem como dos cristais de cetoprofeno puro.

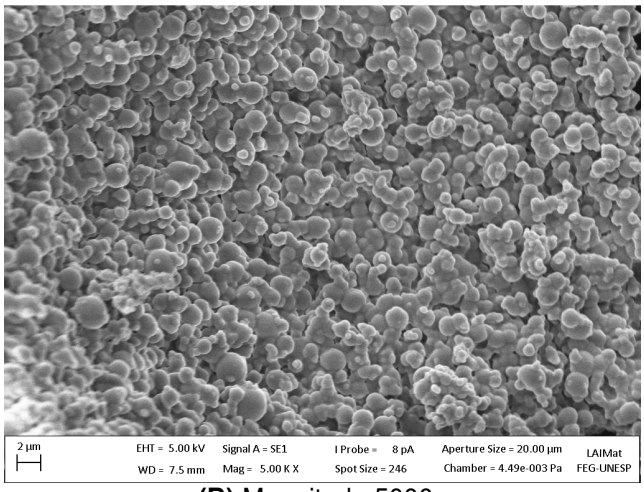
Figura 4.21 – Micrografia de MEV das partículas obtidas nas formulações NPE01 ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e razão mássica cetoprofeno:polímero = 30% (**A**), NPE02 ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ e razão mássica cetoprofeno:polímero = 30% (**B**), NPE03 ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e razão mássica cetoprofeno:polímero = 50% (**C**), NPE04 ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ e razão mássica cetoprofeno:polímero = 50% (**D**) e do cetoprofeno puro (**E**).



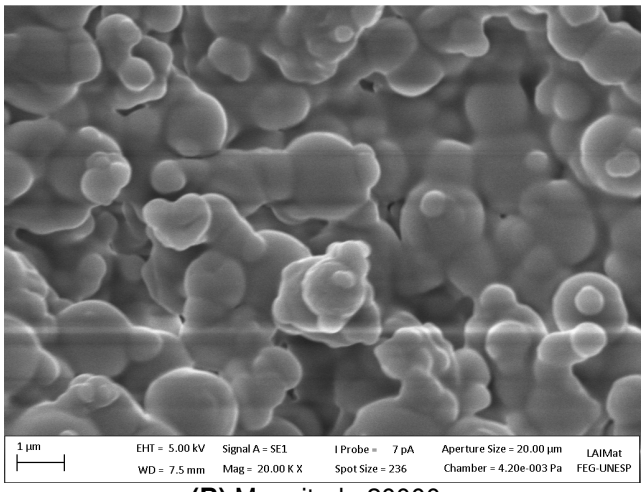
(A) Magnitude 5000x



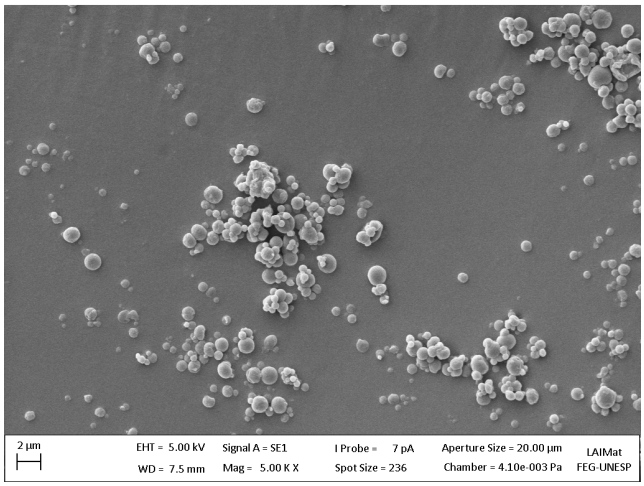
(A) Magnitude 20000x



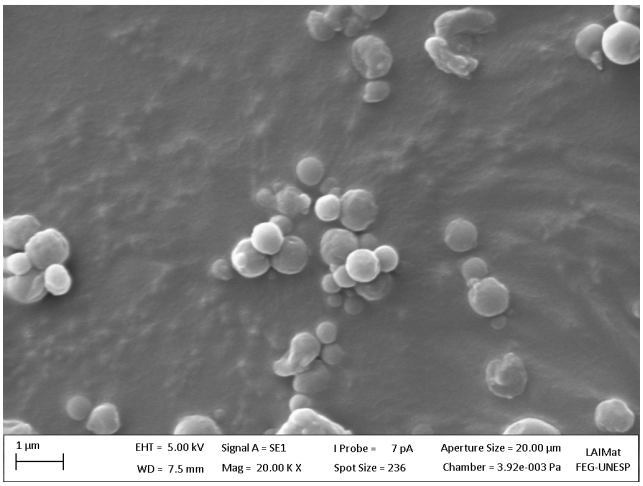
(B) Magnitude 5000x



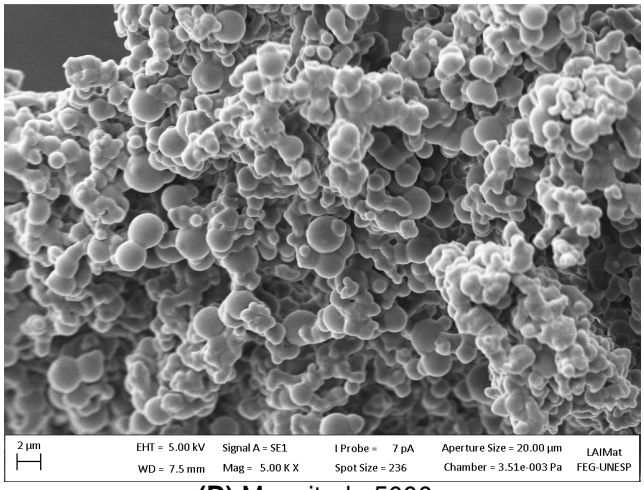
(B) Magnitude 20000x



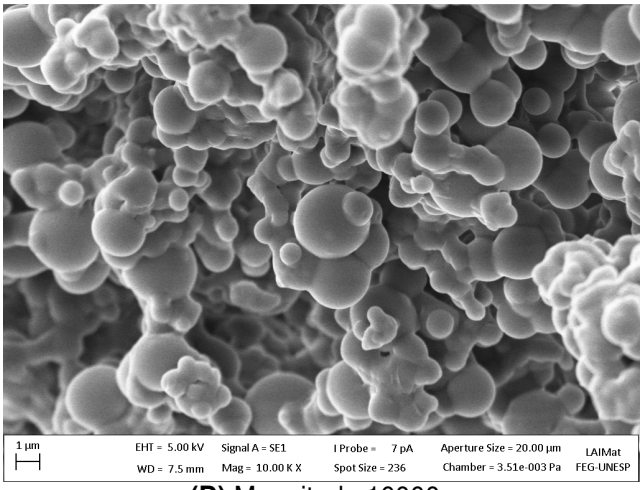
(C) Magnitude 5000x



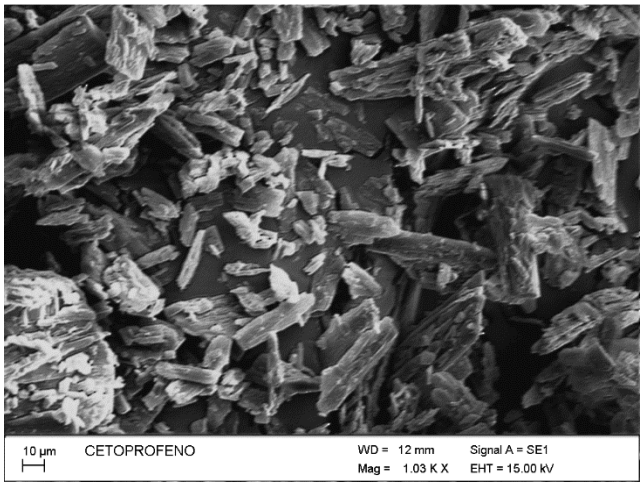
(C) Magnitude 20000x



(D) Magnitude 5000x



(D) Magnitude 10000x



(E) Magnitude 1000x

Fonte: Próprio autor

As partículas preparadas nas formulações NPE01 e NPE03, com $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e razão mássica cetoprofeno:polímero igual a 30 e 50 %, respectivamente, apresentaram superfície lisa e homogênea. Porém, o mesmo não aconteceu com as partículas elaboradas com o mPEG de maior massa molar ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$) (NPE02, B) e (NPE04, D). É possível que a elevada massa molar do bloco de mPEG tenha diminuído a taxa de evaporação ou o coeficiente de difusão do solvente durante a atomização, favorecendo a formação de agregados, porém essa hipótese requer uma investigação mais aprofundada. Outra possibilidade é que parte do copolímero tenha se fundido após a atomização, no cilindro coletor, devido à temperatura de saída do equipamento apresentar valores próximos à temperatura de fusão do copolímero. Conforme já apresentado neste trabalho (Figura 4.14 B), a T_m do copolímero é igual a 59,7°C, e a temperatura de saída no *Nano Spray Dryer* variou entre 40 e 50°C ao longo de todo o processo de atomização. Sendo assim, é provável que algumas cadeias do copolímero tenham se fundido e, consequentemente, causado a agregação de partículas observada nas micrografias de MEV. Também foi observado que as partículas formadas a partir de mPEG com maior massa molar (NPE02 e NPE04) apresentaram um diâmetro maior quando comparadas com as partículas formadas utilizando o bloco de mPEG de menor massa molar (NPE01 e NPE03).

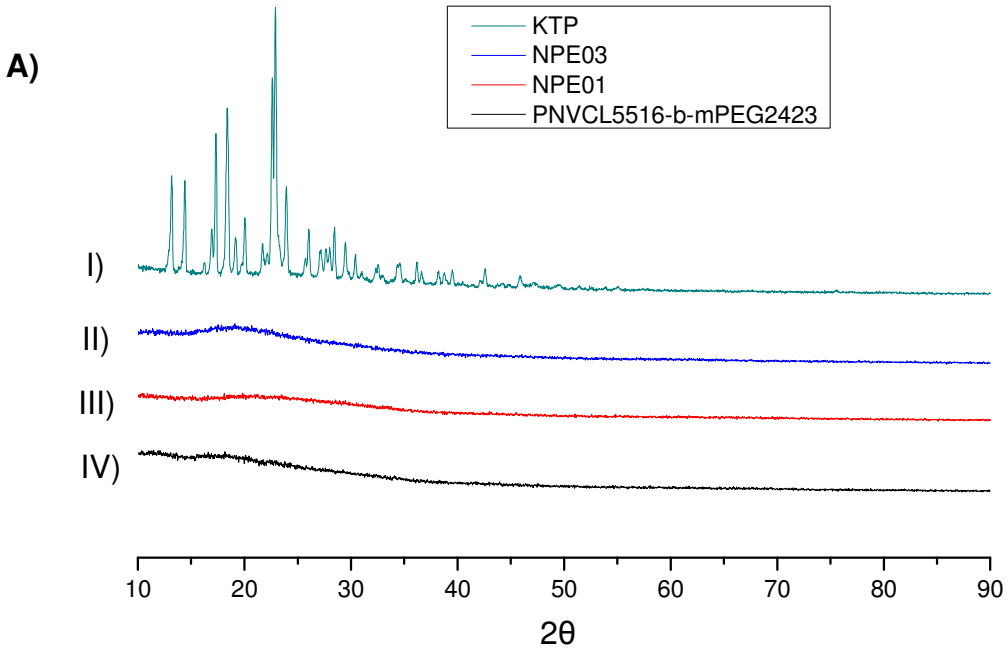
Nas micrografias das partículas, não foram identificados cristais característicos do cetoprofeno, com ilustrado na Figura 4,19 (E), fornecendo um indício de que todo o fármaco presente na amostra está encapsulado na matriz polimérica. Para confirmar essa hipótese, as partículas também foram caracterizadas quanto à cristalinidade por DRX, ao comportamento térmico por DSC, e interação copolímero/droga por FTIR. Para efeito de comparação, realizou-se uma atomização nas mesmas condições do experimento B13_NSD07, porém utilizando o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$, na ausência do cetoprofeno, para a obtenção do branco (B13_NSD08).

4.3.2.2. Difração de Raios X (DRX)

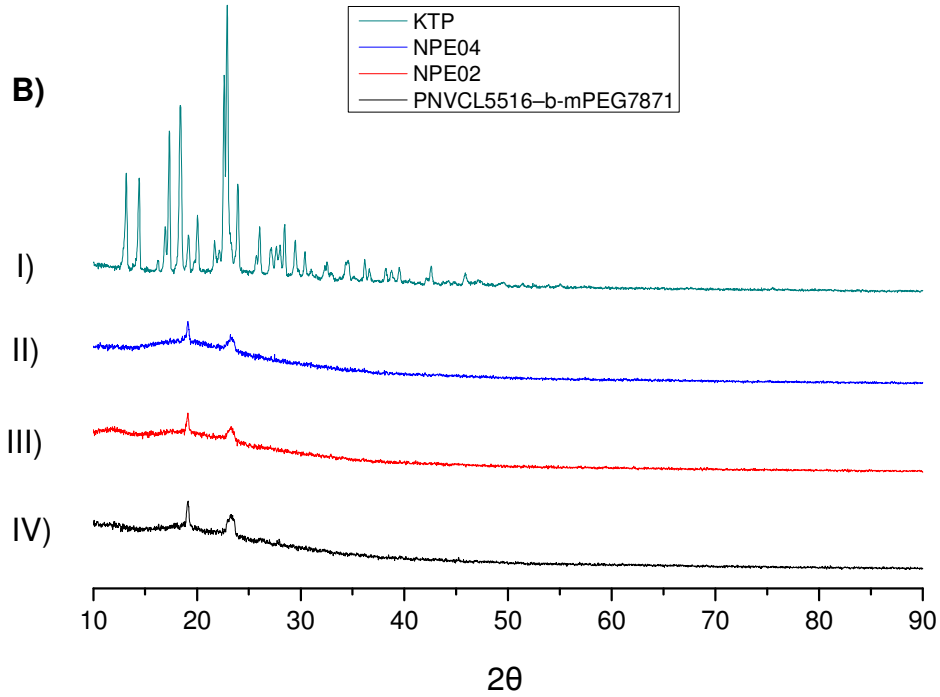
A Figura 4.22 apresenta uma comparação entre os difratogramas das partículas contendo cetoprofeno, com aquele obtido para o cetoprofeno puro (KTP) e para as partículas preparadas na ausência de cetoprofeno (B13_NSD07 e B13_NSD08)

A cristalinidade do cetoprofeno puro é evidenciada através da observação dos picos compreendidos na região de 13° a 25°, observados nos difratogramas I da Figura 4.22 (A e B) (CHAN et al., 2015). A Figura 4.22 – A. IV mostra o difratograma das partículas de $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$, sem cetoprofeno, com característica predominantemente amorfa, devido à ausência de picos cristalinos na amostra, o que corrobora com os resultados de DSC apresentados anteriormente durante a caracterização deste copolímero (capítulo 4, item 4.1.2). Os difratogramas das partículas contendo cetoprofeno (II e III), identificados como NPE01 e NPE03 respectivamente (Figura 4.22 – A. II e III), apresentam o mesmo perfil do copolímero inicial, ou seja, nenhum pico cristalino característico do cetoprofeno foi encontrado nas partículas atomizadas. Estes resultados sugerem uma interação, a nível molecular, entre o cetoprofeno e a matriz polimérica, que levou à amorfização do fármaco e à formação de uma dispersão sólida amorfa entre a droga e o polímero (CHAN et al., 2015; SOUZA; OLIVEIRA, 2012). O mesmo ocorreu com as nanopartículas de cetoprofeno (NPE02 e NPE04), elaboradas utilizando $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$, ou seja, o tamanho do bloco de mPEG não influenciou na encapsulação e na interação do cetoprofeno na partícula obtida por secagem por atomização. Analisando o difratograma do copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$, (Figura 4.22 – B. IV), pode se identificar dois picos em 19° e 23°, característicos do bloco de mPEG (ZHOU et al., 2015; CROWLEY et al., 2012.

Figura 4.22 – Difração de raios X das amostras de cetoprofeno puro (I), das formulações contendo 30 (II) e 50% (III) de cetoprofeno e das partículas sem cetoprofeno (IV). A Figura **(A)** apresenta os resultados obtidos utilizando-se o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e **(B)** o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$.



I) KTP = Cetoprofeno puro; II) NPE01 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ / 30% cetoprofeno; III) NPE03 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ / 50% cetoprofeno; IV) $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ = Branco, sem cetoprofeno;



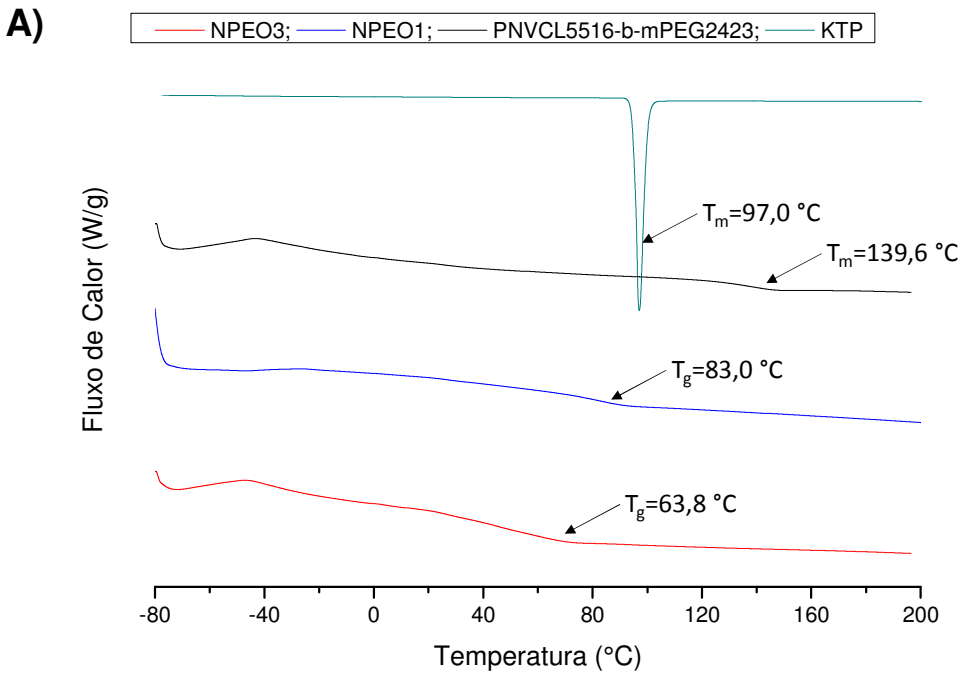
I) KTP = Cetoprofeno puro; II) NPE02 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ / 30% cetoprofeno; III) NPE04 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ / 50% cetoprofeno; IV) $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ = Branco, sem cetoprofeno;

Fonte: Próprio autor.

4.3.2.3. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

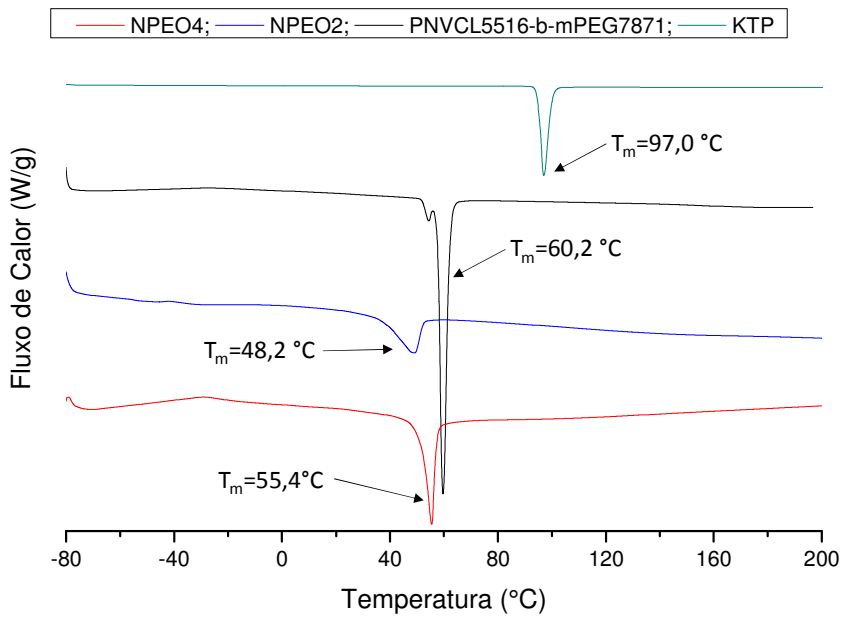
A análise calorimétrica foi realizada a fim de verificar o comportamento térmico do cetoprofeno nas partículas preparadas via secagem por atomização. Para remover o histórico térmico, foram realizadas duas corridas para cada amostra, mas apenas os dados de segundo ciclo de aquecimento estão apresentados na Figura 4.23 (A e B), exceto para o cetoprofeno puro, onde o termograma mostra o primeiro ciclo de aquecimento.

Figura 4.23 – Termogramas de DSC do cetoprofeno puro, das partículas contendo cetoprofeno encapsulado e do polímero puro secas por atomização. Os resultados utilizando o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ estão apresentados em **(A)** enquanto os resultados utilizando o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ estão apresentados em **(B)**.



KTP 1° = Cetoprofeno puro 1º ciclo de aquecimento; NPE01 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ / 30% cetoprofeno; NPE03 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ / 50% cetoprofeno; $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ = Branco, sem cetoprofeno.

B)



KTP 1° = Cetoprofeno puro 1º ciclo de aquecimento; NPE02 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ / 30% cetoprofeno; NPE04 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ / 50% cetoprofeno; $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ = Branco, sem cetoprofeno;

Fonte: Próprio autor

O resultado da análise térmica da primeira corrida do cetoprofeno está em conformidade com os dados reportados na literatura (CHAN et al., 2015; GUE et al., 2013; SOUZA; OLIVEIRA, 2012). É possível perceber, no primeiro aquecimento, que o cetoprofeno está em um estado cristalino, com uma temperatura de fusão (T_m) bem definida em 97°C. Esta fusão do cetoprofeno puro era esperada, tendo em vista o resultado apresentado nas micrografias de MEV e nos difratogramas de DRX.

Analisando os resultados obtidos para o copolímero com o mPEG de menor massa molar ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$, Figura 4.23 A), verifica-se que na ausência de cetoprofeno, uma transição térmica de segunda ordem (T_g) foi verificada em 139,6°C, cujo valor é inferior ao obtido logo após a síntese do copolímero (T_g=150,4°C). Como foi dito anteriormente, a T_g pode variar de acordo com o teor de umidade presente na amostra, neste caso, a água funciona como um plastificante diminuindo a T_g do polímero (LIU et al., 2014). Mesmo após o processo de secagem por atomização, é provável que a partícula final contenha umidade como demonstrado por Chan et al. (2015) e Malaj et al. (2010). Analisando os termogramas de DSC das partículas contendo cetoprofeno nas

proporções mássicas Cetoprofeno:polímero igual a 30% (NPE01) e 50% (NPE03), apenas uma T_g é observada, localizada a 83 ºC e 63,8°C, para as formulações NPE01 e NPE03, respectivamente. Este valor é inferior ao encontrado para a nanopartícula sem cetoprofeno. Pode-se observar também que o aumento do teor de fármaco nas partículas, acarreta em uma diminuição na T_g. Isso sugere a formação de um sistema homogêneo de uma única fase e pode se supor que o cetoprofeno está molecularmente disperso na matriz polimérica (GUE et al., 2013). A ausência de um evento endotérmico nos termogramas das partículas contendo cetoprofeno (NPE01 e NPE03) indica a ausência de vestígios de cetoprofeno cristalino nas amostras, o que confirma o estado amorfo das partículas. Essa ocorrência pode estar relacionada com a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares entre o cetoprofeno e o copolímero e/ou a perda de mobilidade do fármaco após a encapsulação na matriz polimérica durante o processo de atomização (CHAN et al., 2015).

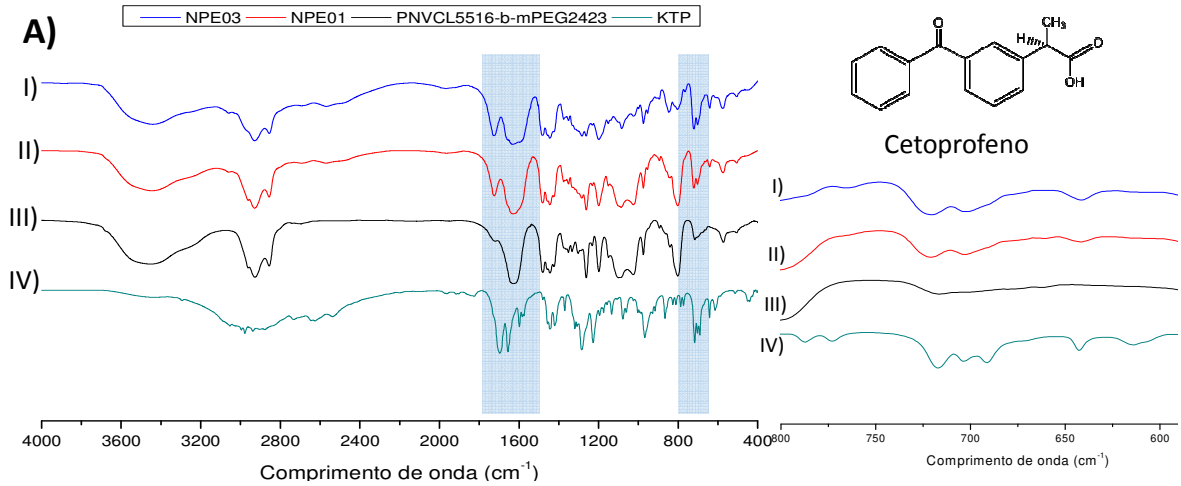
O termograma das partículas elaboradas utilizando o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$, apresenta um evento endotérmico em 60,2°C (Figura 4.23-B), que foi atribuído à propriedade cristalina do bloco de mPEG, o que foi confirmado pelas análises de DRX. Essa temperatura de fusão está próxima do valor encontrado para o copolímero após sua síntese via reações de acoplamento (T_m=59,7°C). Não foram observados eventos endotérmicos de segunda ordem (T_g) para as partículas com ou sem cetoprofeno encapsulado neste copolímero. Os picos endotérmicos dos termogramas das partículas contendo 30 (NPE02) e 50% (NPE04) de cetoprofeno apresentaram uma diminuição e um alargamento no intervalo de fusão em relação à T_m das partículas sem cetoprofeno ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$). Esses resultados sugerem que a presença do cetoprofeno nas nanopartículas, influenciou a taxa de cristalização do bloco de mPEG, levando à formação de cristais menores e com uma distribuição mais larga de tamanhos. Em geral, a introdução de impurezas em um polímero semicristalino promove o alargamento e, muitas vezes, a redução na temperatura de fusão (CROWLEY et al., 2012). A diminuição no ponto de fusão geralmente é um sinal da presença de pequenos cristais. A presença de fármacos nas partículas pode intensificar a formação de cristalitos de tamanho reduzido pois elas podem agir como um

agente de nucleação levando à formação de fase cristalina de tamanhos heterogêneos (CHAMPEAU et al., 2015).

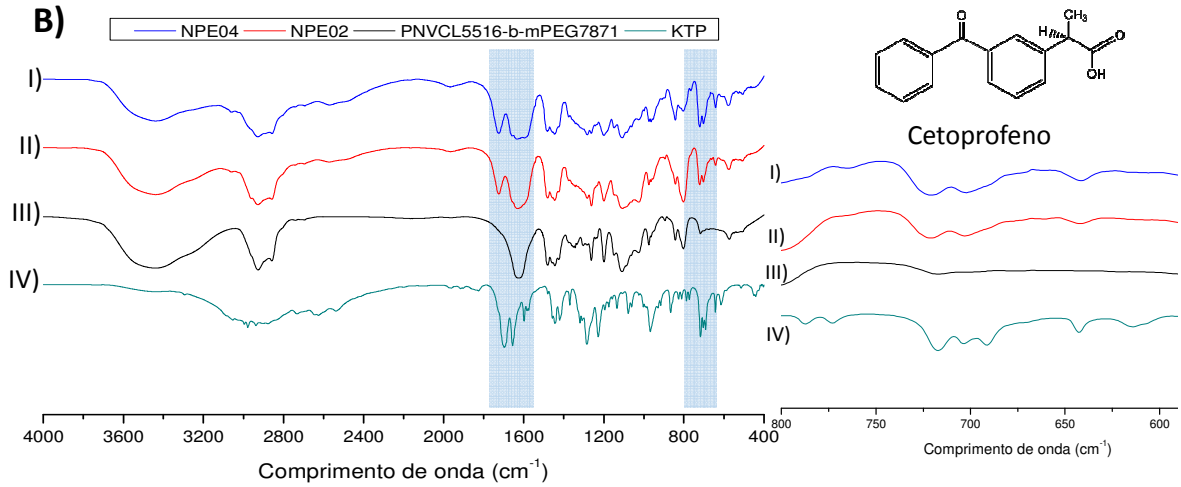
4.3.2.4. Espectrometria de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A interação fármaco-polímero é um fator importante que determina a estabilidade física de dispersões sólidas. Neste trabalho, utilizou-se a espectrometria de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), como uma técnica auxiliar para estudar a interação do cetoprofeno com a matriz polimérica de PNVCL-*b*-mPEG. A Figura 4.22 apresenta o espectro do cetoprofeno cristalino, da partícula de copolímero amorfo ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$) e semicristalino ($PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$), preparadas na ausência do fármaco e das partículas com 30% (NPE01 e NPE02) e 50% (NPE03 e NPE04) de cetoprofeno encapsulado.

Figura 4.24 – Espectro de FTIR das partículas de cetoprofeno encapsulado por atomização com razão droga/polímero de 50% (I) e de 30% (II), copolímero sem droga (III) e do cetoprofeno puro (IV). A Figura **(A)** apresenta os resultados obtidos com o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e **(B)** com o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$.



I) NPE03 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ / 50% cetoprofeno; II) NPE01 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ / 30% cetoprofeno; III) $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ = Branco, sem cetoprofeno; IV) KTP = Cetoprofeno puro;



I) NPE04 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ / 50% cetoprofeno; II) NPE02 = $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ / 30% cetoprofeno; III) $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ = Branco, sem cetoprofeno; IV) KTP = Cetoprofeno puro;

Fonte: Próprio autor.

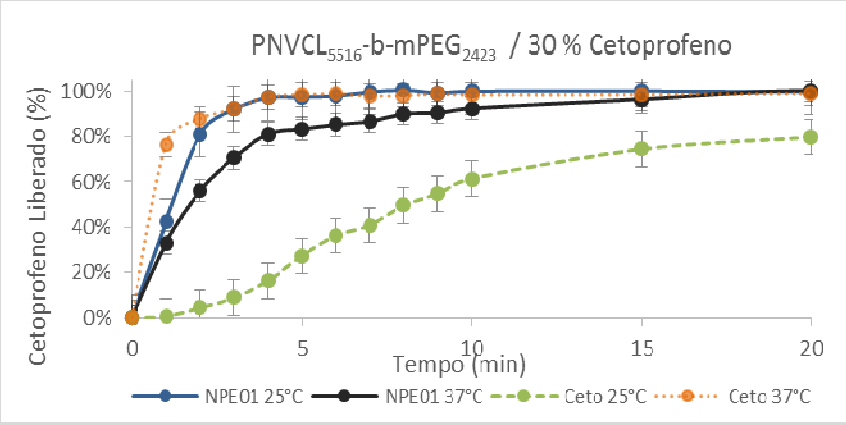
O espectro do cetoprofeno cristalino apresenta dois picos principais em 1655 e 1697 cm^{-1} que correspondem ao estiramento C=O do grupo carbonila (Figura 4.22 IV). Estes picos tornam-se largos no espectro das nanopartículas contendo cetoprofeno encapsulado e, o último, deslocado para 1739 cm^{-1} (Figura 4.22 I e II). Este dois eventos sugerem que há interação entre o cetoprofeno e o

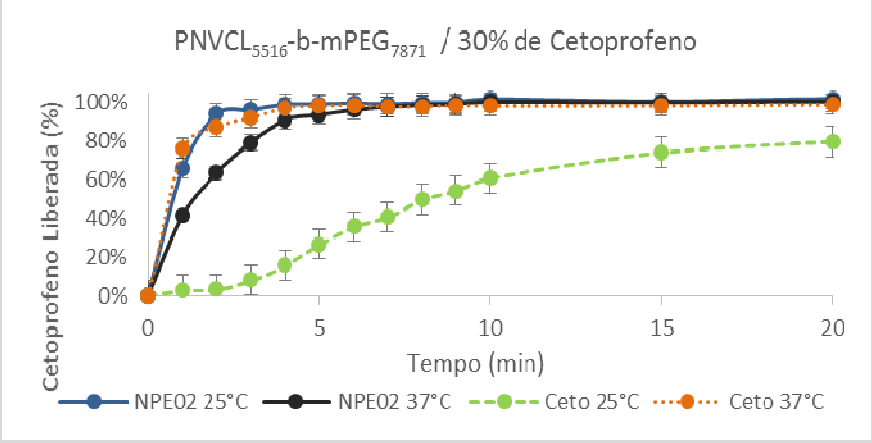
copolímero após a formação das partículas por atomização. Além disso, é possível visualizar um tripleto na região de 700 cm^{-1}, para o cetoprofeno cristalino e um dupleto, na mesma região, após a encapsulação do fármaco na matriz polimérica, que evidenciam o estado amorfo das moléculas de cetoprofeno encapsuladas (CHAN et a., 2015). Este resultado reforça a suposição de que o cetoprofeno interage com a matriz polimérica e encontra-se em um estado amorfo, conforme sugerido pelos resultados anteriores de DRX e DSC. Este comportamento foi identificado em todas as partículas, independentemente da fração de cetoprofeno e do tamanho do bloco de mPEG no copolímero.

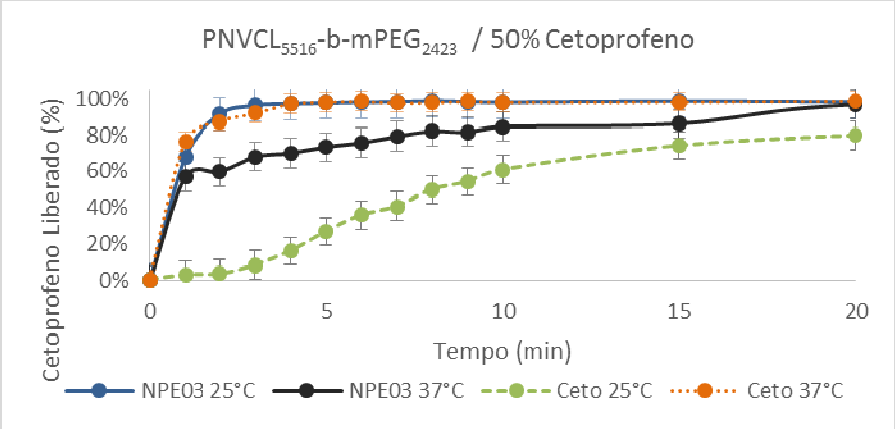
4.4. Cinética de liberação do cetoprofeno "*in vitro*"

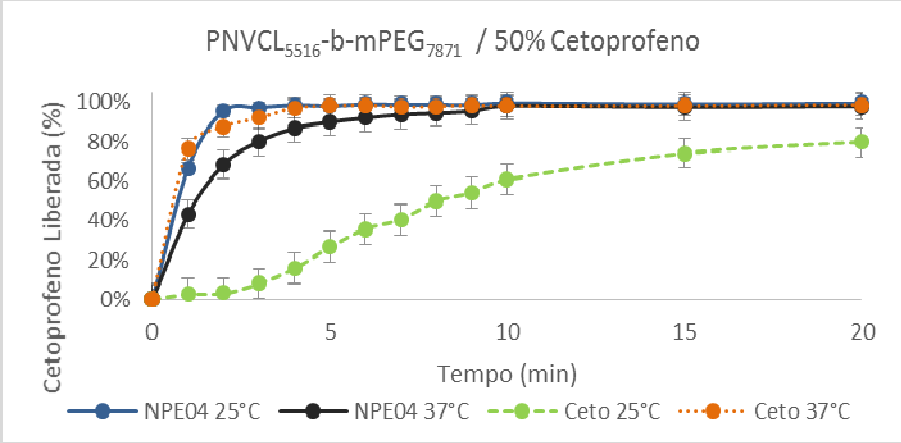
A capacidade de dispersões sólidas amorfas de influenciar na velocidade de dissolução e biodisponibilidade de princípios ativos tem sido amplamente estudada (CHAN et al., 2015; VO; PARK; LEE, 2013). Isto se deve à habilidade do sistema amorfo em exibir alto nível de supersaturação e, assim, aumentar a solubilidade aparente do agente ativo, comparada aos sistemas cristalinos (CHAN et al., 2015; VO; PARK; LEE, 2013). Neste trabalho, quatro formulações contendo cetoprofeno encapsulado na matriz de PNVCL-*b*-mPEG foram preparadas com 30 e 50% de fármaco, sendo duas delas amorfas (NPE01 e NPE03), utilizando o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$, e duas semicristalinas, utilizando o copolímero $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$ (NPE02 e NPE04), conforme os resultados relatados no item anterior. Os resultados relacionados à cinética de liberação "*in vitro*" do cetoprofeno foram obtidos em tampão fosfato (pH 7,4), para simular o pH do intestino, mantendo a temperatura do meio em 25 ou 37 °C. Para determinar a concentração do cetoprofeno no meio de dissolução utilizou-se a técnica de UV/visível no comprimento de onda de 260 nm e uma curva de calibração do cetoprofeno previamente obtida.

Figura 4.25 – Comparação do perfil de liberação entre os sistemas de dispersão sólida: cetoprofeno puro, partículas contendo 30% e 50% do fármaco e utilizando os copolímeros $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{2423}$ e $PNVCL_{5516}$-b-$mPEG_{7871}$.









Fonte: Próprio autor.

Conforme discutido anteriormente, o copolímero em bloco utilizado para elaborar as partículas possui sensibilidade à temperatura, devido à fração de PNVCL presente na sua estrutura. Assim, é esperado que a cinética de liberação do cetoprofeno seja influenciada pela temperatura. Para efeito de comparação, ensaios de dissolução do cetoprofeno puro também foram realizados nas mesmas condições experimentais das partículas contendo cetoprofeno encapsulado e todos os resultados estão apresentados na Figura 4.25. Todas as curvas são apresentadas em termos de porcentagem de cetoprofeno liberada, calculada em função da massa de fármaco adicionada ao meio de liberação, estimada a partir do teor de fármaco na partícula, e a quantidade liberada em função do tempo, determinada por UV/vis.

Os ensaios de dissolução do cetoprofeno puro, não encapsulado, a 37°C e 25°C estão representados pelas curvas tracejadas em laranja e verde, respectivamente. Como esperado, a temperatura de liberação influencia fortemente o perfil de dissolução do cetoprofeno puro, como pode ser observado

na Figura 4.23, devido à sua maior solubilidade a 37°C. Analisando a porcentagem de fármaco dissolvido no meio de liberação, verifica-se que, a 37 °C foram necessários apenas quatro minutos para dissolver 100% do cetoprofeno, enquanto que, a 25°C apenas 16% estava solúvel, neste mesmo intervalo de tempo.

Comparando os perfis de liberação do cetoprofeno encapsulado nas matrizes poliméricas e do cetoprofeno puro, pode-se observar que, em todos os casos, houve um aumento percentual do fármaco dissolvido no meio de liberação nos ensaios realizados a 25°C, independentemente do seu teor nos experimentos de encapsulação e da característica semicristalina ou amorfa da matriz polimérica. Cerca de 2 a 4 minutos foram suficientes para liberar aproximadamente 100% do cetoprofeno encapsulado nas partículas, já para o cetoprofeno não encapsulado, menos de 80% haviam se dissolvido mesmo após 20 minutos de ensaio, ou seja, a presença do PNVCL-b-mPEG promoveu um aumento efetivo da solubilidade do cetoprofeno à 25°C. Este aumento na cinética de liberação do fármaco encapsulado, comparado ao perfil de dissolução do cetoprofeno puro, pode ser explicado pela diminuição no tamanho da partícula, em relação aos cristais puros, o que aumenta a sua área superficial e, consequentemente, a superfície de contato com o meio de liberação. Outro fator que pode ter contribuído para este aumento na dissolução do cetoprofeno é a presença de um copolímero hidrofílico a 25 °C (CHAN et al., 2015; GUE et al., 2015; GUE et al, 2013; MALAJ et al., 2010). Não houve diferença significativa entre os perfis de liberação para as quatro formulações testadas, podendo-se concluir que o grau de amorfização do sistema de dispersões sólidas não influenciou no perfil de dissolução do cetoprofeno no meio de liberação. Resultado similar foi encontrado por Chan et al. (2015) utilizando poli(vinilpirrolidona) (PVP), poli(vinilpirrolidona-co-álcool vinílico) (PVPVA), poli(álcool vinílico) (PVA) como matrizes poliméricas.

Nos ensaios realizados a 37°C um comportamento oposto ao anterior foi observado nas quatro formulações testadas: o cetoprofeno puro apresentou um perfil de dissolução maior do que quando encapsulado na matriz de PNVCL-b-mPEG. Isto provavelmente ocorreu devido a uma modificação da estrutura tridimensional das partículas, gerando ao aumento na interação entre a fração de PNVCL na partícula e o cetoprofeno. Como a temperatura de ensaio está acima

da LCST da PNVCL, a solubilidade dos segmentos constituídos desse polímero diminui, favorecendo o processo de auto agregação, típico de polímeros termossensíveis. Durante esse processo uma estrutura núcleo/casca (*core/shell*) pode se formar devido à fração de mPEG no copolímero, uma vez que seus segmentos são hidrofílicos independentemente da temperatura de ensaio. Sua presença na interface partícula-água fornece estabilidade coloidal ao sistema, formado assim, uma estrutura com núcleo constituído de PNVCL e a casca de mPEG, como reportado por Prabaharan et al. (2009). Durante esse rearranjo estrutural, algumas moléculas de fármaco podem se desprender das partículas, sendo dissolvidas no meio de liberação, enquanto outras permanecem no núcleo. As interações PNVCL/cetoprofeno podem reter as moléculas de fármaco por mais tempo, diminuindo, assim, a liberação do cetoprofeno para o meio de dissolução (PRABAHARAN et al., 2009).

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foram estudadas duas rotas químicas para a síntese de copolímeros em bloco, do tipo poli(N-vinilcaprolactama)-b-poli(etileno glicol) (PNVCL-b-mPEG). Em uma segunda etapa, os copolímeros obtidos foram utilizados como matriz polimérica na encapsulação do cetoprofeno, pela técnica de secagem por atomização.

Utilizou-se a polimerização via radicais livres convencional para sintetizar PNVCL contendo um ácido carboxílico terminal. Para isto, foi adicionado ao meio de reação um agente de transferência de cadeia (CTA) da classe das mercaptanas, em duas quantidades diferentes para a obtenção de PNVCL-COOH, com duas massas molares distintas. Estes homopolímeros foram utilizados na síntese de copolímeros em bloco, via reações de esterificação, utilizando como segundo reagente (homopolímero), mPEG-OH, também com duas massas molares bem distintas. As caracterizações dos copolímeros sugerem a obtenção de estruturas em bloco para as reações conduzidas a 50ºC, tempo de reação de 48h, empregando a razão PNVCL-COOH/mPEG-OH/DCC/DMAP igual a 1,25:1:2:0,2 e utilizando a PNVCL-COOH de menor massa molar. Entretanto, quando utilizou-se a PNVCL-COOH de maior massa molar, as reações não foram bem sucedidas, provavelmente devido à baixa eficiência de funcionalização das cadeias de PNVCL pelo agente de transferência de cadeia (MPA). Uma baixa eficiência na reação de transferência de cadeia, resultaria em um menor número de cadeias de PNVCL contendo em sua extremidade, a função ácido carboxílico. Com relação ao mPEG-OH, verificou-se que o homopolímero de maior massa molar levou à formação de um copolímero com características semicristalinas, enquanto o menor conduziu à formação de uma estrutura completamente amorfa.

Os resultados não foram muito satisfatórios no caso das sínteses dos copolímeros em bloco, mPEG-b-PNVCL, pelo mecanismo de polimerização via radical livre viva/controlada, (RAFT/MADIX). As análises por espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^{1}H), confirmaram a obtenção do

macroagente de transferência de cadeia, mPEG-oEX. Entretanto, as reações de extensão de cadeia não conduziram à formação de um copolímero em bloco. Nos ensaios de Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) não foi identificado um acréscimo significativo de massa molar do copolímero final em relação a massa molar do macroagente inicial.

Nos testes iniciais para a síntese de partículas de PNVCL-b-mPEG pela técnica de secagem por atomização, utilizando o Nano Spray Dryer, ficou evidenciada a importante relação entre o tipo de solvente e a concentração do polímero na solução de alimentação, na morfologia das partículas finais. Neste trabalho, a melhor condição experimental encontrada para o processo de atomização das partículas foi aquela em que o etanol foi utilizado como solvente e o polímero utilizado em uma concentração de 0,1% (m/v). Os ensaios de encapsulação do cetoprofeno foram realizados utilizando os copolímeros em bloco, obtidos a partir da PNVCL-COOH de massa molar de 5516 g/mol com duas massas molares distintas de mPEG. A encapsulação do cetoprofeno nas matrizes poliméricas foi bem sucedida e a eficiência de encapsulação foi superior a 80% .A diferença no tamanho do bloco de mPEG não interferiu na cinética de liberação da droga, nos ensaios in vitro. Os resultados de FTIR indicam uma interação entre o cetoprofeno e a matriz polimérica. Após a encapsulação, o cetoprofeno apresentou uma estrutura amorfa e a taxa de liberação foi maior quando comparada com a taxa de liberação do cetoprofeno puro. Assim, conclui-se que a matriz polimérica, PNVCL-b-mPEG, é capaz de interagir com o fármaco, aumentando a sua taxa de liberação. Estes resultados, apesar de preliminares, confirmam o potencial destes copolímeros, quando o objetivo é melhorar a biodisponibilidade deste ativo em aplicações in vivo.

REFERÊNCIAS

ACCARDO, A.; MORELLI, G. Review Peptide-Targeted Liposomes for Selective Drug Delivery: Advantages and Problematic Issues. **Peptide Science,** v. 104, p. 462-479, 2015.

ACHARYA, S.; SAHOO, S. K. PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect. **Advanced Drug Delivery Reviews,** v. 63, p. 170–183, 2011.

ADAMS, M. L.; LAVASANIFAR, A.; KWON, G. S. Amphiphilic block copolymers for drug delivery. **Journal of Pharmaceutical Science,** v. 92, p. 1343-1355, 2003.

ANASTASE-RAVIONA, S. et al. New antibody purification procedure using a thermally responsive poly(N-isopropylacrylamide)–dextran derivative conjugate. **Journal of Chromatography B,** v. 761, p. 247–254, 2001.

ANTON, N.; BENOIT, J, P.; SAULNIER, P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates-a review**. Journal of Controlled Release,** v. 128, p. 185–199, 2008.

ARPAGAUS, C. A novel laboratory-scale spray dryer to produce nanoparticles. **Drying Technology,** v. 30, p. 1113–1121, 2012.

BABINOT, J.; RENARD, E.; LANGLOIS V. Controlled Synthesis of Well Defined Poly(3-hydroxyalkanoate)s-based Amphiphilic Diblock Copolymers Using Click Chemistry. **Macromol. Chem. Phys.,** v. 212, p. 278–285, 2011.

BAEK, K. et al. Self-assembly of nanostructured materials through irreversible covalent bond formation. **Accounts of Chemical Research,** v. 48, p. 2221–2229, 2015.

BAIMARK, Y.; SRISUWAN, Y. Thermal characterization of biodegradable methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(D,L-lactide)/methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(e-caprolactone) blend nanoparticles. **J Therm Anal Calorim.,** v. 112, p. 795–803, 2013.

BANGIA, J. K.; OM, H. Nanoemulsions: a versatile drug delivery tool. **International Journal Pharmaceutical Sciences and Research,** v. 6, p. 1363-1372, 2015.

BARLOW, S. The potential risks arising from nanoscience and nanotechnologies on food and feed safety. **The EFSA Journal,** v. 958, p.1-39, 2009.

BASSYOUNI, F. et al. Advances and new technologies applied in controlled drug delivery system. **Res Chem Intermed,** v. 41, p. 2165–2200, 2015.

BAUDIS, S.; BEHL, M.; LENDLEIN, A. Smart polymers for biomedical applications. **Macromolecular Chemistry and Physics,** v. 215, p. 2399–2402, 2014.

BEKISH, A. V. Carbon-carbon bond fission on oxidation of primary alcohol to carboxylic acid. **Tetrahedron Letter**, v. 25, p. 3082 – 3085, 2012.

BHANDARI, N. et al. Microspheresas a novel drug delivery sysytem -a review. **International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science,** v. 3, p. 489-506, 2014.

BHARALI, D. J. et al. Cross-linked polyvinylpyrrolidone nanoparticles: a potential carrier for hydrophilic drugs. **Journal of Colloid and Interface Science,** v. 258, p. 415–423, 2003.

BILAN, R. et al. Quantum dot surface chemistry and functionalization for cell targeting and imaging. **Bioconjugate Chemistry,** v. 26, p. 609–624, 2015.
BONNET, V. et al. Cyclodextrin nanoassemblies: a promising tool for drug delivery. **Drug Discovery Today,** v. 20, p. 1120-1126, 2015.

BORDWELL, F. G. et al. Assessment of the importance of changes in ground-state energies on the bond dissociation enthalpies of the O–H bonds in phenols and the S–H bonds in thiophenols **Journal American Chem. Soc.,** v. 116, p. 6605–6610,1994;

BOYKO, B. **N-Vinylcaprolactam based Bulk and Microgels: Synthesis, Structural Formation and Characterization by Dynamic Light Scattering.** 2004, 173 f. Dissertation (Doctor rerum naturalium) - Dresden University of Technology, Desden, Germany, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Formulário terapêutico nacional 2008: Rename 2006. Série B. Textos Básicos de Saúde.** Brasília, 2008. 897 p.

BRINKHUIS, R. P. et al. Polymeric vesicles in biomedical applications. **Polym. Chem.,** v. 2, p. 1449–1462, 2011.

BRINKHUIS, R. P. et al. Size Dependent Biodistribution and SPECT Imaging of ^{111}In-Labeled Polymersomes. **Bioconjugate Chem.,** v. 23, p. 958–965, 2012.

BROICHSITTER, M. B.; STREHLOW, B.; KISSEL, T. Direct fractionation of spray-dried polymeric microparticles by inertial impaction. **Powder Technology,** v. 286, p. 311–317, 2015.

BROUWERS, J. R. B. Advanced and controlled drug delivery systems in clinical disease management. **J. Pharm. World Sci.,** v. 18, p. 153 – 162, 1996.

CAI, G. et al. A Facile Route for Regioselective Conjugation of Organo-Soluble Polymers onto Chitosan. **Macromol. Biosci.,** v. 9, p. 256–261, 2009.
CALÓ, E.; KHUTORYANSKIY, V. V. Biomedical applications of hydrogels: a review of patents and commercial products. **European Polymer Journal,** v. 65, p. 252–267, 2015.

ČERNOCH, P. et al. Thermoresponsive polymer system based on poly(Nvinylcaprolactam) intended for local radiotherapy applications. **Applied Radiation and Isotopes,** p. 1 – 20, 2015.

CHAMPEAU M. et al. Drug Loading of Sutures by Supercritical CO_2 Impregnation: Effect of Polymer/Drug Interactions and Thermal Transitions. **Macromol. Mater. Eng.,** v. 300, p. 596–610, 2015.

CHAN, S. Y. et al. The characterization and dissolution performances of spray dried solid dispersion of ketoprofen in hydrophilic carriers. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences,** p. 1-14, 2015.

CHARCOSSET, C.; FESSI, H. Preparation of nanoparticle with a membrane cantactor. **Journal of Membrane Science,** v. 266, p. 115-120, 2005.

CHEN, J. et al. Non-spherical particles for targeted drug delivery. **Chemical Engineering Science,** v. 125, p. 20–24, 2015.

CHEN, J.-P.; CHU, D.-H.; SUN, Y.-M. Immobilization of α-amylase to temperature-responsive polymers by single or multiple point attachments. **Journal of Chem. Tech. Biotechnology,** v. 69, p. 421-428, 1997.

CHIEFARI, J. Living free-radical polymerization by reversible addition-fragmentation chain transfer: the RAFT process. **Macromolecules**, v. 31, p. 5559-5562, 1998.

CHOI, H. S. et al. Renal clearance of quantum dots. **Nature Biotechnology,** v. 25, n. 10, 2007.

CHU, C. C. **Biodegradable polymeric biomaterials: an updated overview**. The Biomedical Engineering Handbook: 2 nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2000.

CORTEZ-LEMUS, N. A.; LICEA-CLAVERIE, A. Poly(N-vinylcaprolactam), a comprehensive review on a thermoresponsive polymer becoming popular. **Progress in Polymer Science,** p. 1-51, 2015.

COULEMBIER, O.; DUBOIS, P. 4-Dimethylaminopyridine-based organoactivation: from simple esterification to lactide ring-opening ‘‘living’’ polymerization. **Journal of Polymer Science Part a: Polymer Chemistry,** v. 50, p. 1672–1680, 2012.

CROWLEY, M. M. et al. The influence of guaifenesin and ketoprofen on the properties of hot-melt extruded polyethylene oxide films. **European Journal of Pharmaceutical Sciences,** v. 22, p. 409–418, 2004.

DESGOUILLES, S.; et al. The design of nanoparticles obtained by solvent evaporation: a comprehensive study. **Langmuir,** v. 19, p. 9504–9510, 2003.

DILGIMEN, A. S. et al. Water-soluble covalent conjugates of bovine serum albumin with anionic poly(N-isopropyl-acrylamide) and their immunogenicity. **Biomaterials,** v. 22, p. 2383-2392, 2001.

DING, G. et al. Micelle formation from hydrophobically end-capped poly(ethylene oxide) and its application for delivery of poorly water-soluble drug. **Colloid. Polym. Sci.,** Set. 2015. DOI 10.1007/s00396-015-3726-1.

DING, Z.; CHEN, G.; HOFFMAN, A. S. Synthesis and purification of thermally sensitive oligomer-enzime conjugates of poly(N-isopropylacrylamide)-trypsin. **Bioconjugate Chemistry,** v. 7, p. 121-126, 1996.

DRUMOND, W. S.; WANG, S. H. Síntese e Caracterização do Copolímero Poli (Ácido Lático-B-Glicol Etilênico). **Polímeros: Ciência e Tecnologia,** v. 14, n. 2, p. 74-79, 2004.

DUARAH, S. et al. formulation and evaluation of metformin engineered polymeric nanoparticles for biomedical purpose. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences,** v. 6, p. 1005-1019, 2015.

DUMITRIU, S; DUMITRIU, C. M.: **Hydrogel and General Properties of Biomaterials**. 1st ed, New York:Marcel Dekker, 1993.

DUNG, B. T. **DungNew segmented block copolymers based on hard and soft segments using selectively reacting bifunctional coupling agents.** 2007, 116 f. Dissertation (Doctor rerum naturalium) - Dresden University of Technology, Dresden, Germany, 2007.

DURLI, T. L. et al. Innovative approach to produce submicron drug particles by vibrational atomization spray drying: influence of the type of solvent and surfactant. **Drug Development and Industrial Pharmacy,** v. 40, p. 1011–1020, 2014.

EROTHU, H. et al. Facile synthesis of poly(3-hexylthiophene)-blockpoly(ethylene oxide) copolymers via Steglich esterification. **Polymer Chemistry,** v. 4, p. 3652–3655, 2013.

FANG, R. et al. Nanoscale drug delivery systems: a current review on the promising paclitaxel formulations for future cancer therapy. **World Scientific Publishing Company,** v. 10, p. 1-27, 2015.

FELICE, B. et al. Drug delivery vehicles on a nano-engineering perspective. **Materials Science and Engineering C,** v. 41, p. 178–195, 2014.

FLEIGE, E.; QUADIR, M. A.; HAAG, R. Stimuli-responsive polymeric nanocarriers for the controlled transport of active compounds: Concepts and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews,** v. 64, p. 866-884, 2012.

FRANCO, N. A. **Nanopartículas e suas aplicações em ciências farmacêuticas o estado da arte.** 2013, 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, Portugal, 2015.

FUNDUEANU, G.; CONSTANTIN, M.; ASCENZI, P. Fast-responsive porous thermoresponsive microspheres for controlled delivery of macromolecules. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 379, p. 9-17, 2009.

GANDHI, J. K.; DESHMANE, S. V.; BIYANI, K. R. Polymers in pharmaceutical drug delivery system: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research,** v. 14, p. 57-66, 2012.

GANTA, S. et al. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. **Journal of Controlled Release,** v. 126, p. 187–204, 2008.

GAO, C. et al. Resorcinarene-centered amphiphilicstar-block copolymers: synthesis, micellization and controlled drug release. **Chinese Journal of Polymer Science,** v. 32, p. 1431-1441, 2014.

GERMERSHAUS, O. et al. Application of natural and semi-synthetic polymers for the delivery of sensitive drugs. **International Materials Reviews,** v. 60, p. 101-130, 2015.

GIL, E. S.; HUDSON, S. M. Stimuli-reponsive polymers and their bioconjugates. **Prog. Polym. Sci.,** v. 29, p. 1173–1222, 2004.

GINÉS, L. M. et al. Thermal characterization of polyethylene glycols applied in the pharmaceutical technology using differential scanning calorimetry and hot stages microscopy. **Journal of thermal analysis,** v. 46, p. 291 – 304, 1996.

GREF, R. et al. The controlled intravenous delivery of drugs using PEG-coated sterically stabilized nanospheres. **Advanced Drug Delivery Reviews,** v. 64, p. 316–326, 2012.

GRINBERG, V. Y. et al. Energetics of LCST transition of poly(ethylene oxide) in aqueous solutions. **Polymer,** v. 73, p. 86-90, 2015.

GUE, E. et al. Accelerated ketoprofen release from spraydried polymeric particles: importance of phase transitions and excipient distribution. **Drug Development and Industrial Pharmacy,** v. 41, p. 838-850, 2015.

GURNY, R. et al. Development of biodegradable and injectable latices for controlled release of potent drugs. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 7, p. 1–25, 1981.

HAMIELES, A. E.; TOBITA, H. Polymerization process. **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry,** 5th ed, Weinheim: Wiley-VCH, 1995. v. A21.

HARSHA, S. et al. Design and formulation of mucoadhesive microspheres of sitagliptin. **Journal of Microencapsulation,** v. 30, p. 257–264, 2013.

HARSHA, S. et al. Pharmacokinetics and tissue distribution of spray-dried carboplatin microspheres: lung targeting via intravenous route. **Archives of Pharmacal Research,** v. 37, p. 352–360, 2014.

HAZER, D. B.; KILIÇAY, E.; HAZER, B. Poly(3-hydroxyalkanoate)s: Diversification and biomedical applications: A state of the art review. **Materials Science and Engineering C,** v. 32, p. 637-647, 2012.

HE, C.; LU, J.; LIN, W. Hybrid nanoparticles for combination therapy of cancer. **Journal of Controlled Release,** p. 1-13, 2015.

HENRÍQUEZ, C. et al. Thiols as chain transfer agents in free radical polymerization in aqueous solution. **Polymer,** v. 44, p. 5559–5561, 2003.

HILL, M. R.; CARMEAN, R. N.; SUMERLIN, B. S. Expanding the Scope of RAFT Polymerization: Recent Advances and New Horizons. **Macromolecules,** v. 48, p. 5459–5469, 2015.

HINRICHS, W. L. J. et al. Thermosensitive polymers as carriers for DNA delivery. **Journal of Controlled Release,** v. 60, p. 249–259, 1999.

HOCINE, S.; LI, M. Thermoresponsive self-assembled polymer colloid in water. **Soft Matter**, v. 9, p. 5839–5861, 2013.

HOFMEISTER, I.; LANDFESTER, K.; TADEN, A. Controlled formation of polymer nanocapsules with high diffusionbarrier properties and prediction of encapsulation efficiency. **Angewandte Chemie International Edition,** v. 54, p. 327–330, 2015.

HUANG, Y. L. et al. Aerobic and anaerobic biodegradation of polyethylene glycols using sludge microbes. **Process Biochemistry,** v. 40, p. 207–211, 2015.

HURTGEN, M. et al. Synthesis of Thermo-Responsive Poly(N-vinylcaprolactam)-Containing Block Copolymers by Cobalt-Mediated Radical Polymerization. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry,** v. 50, p. 400–408, 2012.

HUSSAIN, A. et al. Lipid-drug conjugates for oral bioavailability enhancement. **Recent Patents on Nanomedicine,** v. 5, p. 87-95, 2015.

HUTANU, D. et al. Recent applications of polyethylene glycols (pegs) and peg derivatives. **Modern Chemistry & Applications,** v. 2, p. 1-6, 2014.

IMAZ, A.; FORCADA, J. N-vinylcaprolactam-based microgels: Effect of the concentration and type of cross-linker. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry,** v. 46, p. 2766-2775, 2008.

IZUNOBI, J. U.; HIGGINBOTHAM, C. L. Polymer Molecular Weight Analysis by ^{1}H NMR Spectroscopy. **Journal of Chemical Education,** v. 88, p. 1098–1104, 2011.

JADHAV, R. A review on hydrogel as drug delivery system. **World Journal of Pharmaceutical Research,** v. 4, p. 578-599, 2015.

JEFFRIES-EL, M.; SAUVE, G.; MCCULLOUGH, R. D. Facile Synthesis of End Functionalized Regioregular Poly(3-alkylthiophene)s via Modified Grignard Metathesis Reaction. **Macromolecules,** v. 38, p. 10346-10352, 2005.

JENKINS, A. D.; JONES, R. G.; MOAD, G. Terminology for reversible-deactivation radical polymerization previously called “controlled” radical or “living” radical polymerization (IUPAC Recommendations 2010). **Pure Appl. Chem.,** v. 82, n. 2, p 483–491, 2010.

JEON, H. J. et al. Synthesis of poly(ethylene oxide)-based thermoresponsive block copolymers by RAFT radical polymerization and their uses for preparation of gold nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.,** v. 317, p. 496–503, 2008.

JEONG, B.; GUTOWSKA, A. Lessons from nature: stimuliresponsive polymers and their biomedical applications. **Trends in Biotechnology,** v .20, n. 7, 2002.

JIANG, X. et al. A novel poly(N-vinilcaprolactam)-based well defined amphiphilic graft copolymer synthesized by successive RAFT and ATRP. **Polymer Chemistry**, v. 4, p. 1402-1411, 2013.

JUSTYNSKA, J.; HORDYJEWICZ, Z.; SCHLAAD, H. New Functional Diblock Copolymers Through Radical Addition of Mercaptans. **Macromol. Symp.,** v. 240, p. 41–46, 2006.

JUSTYNSKA, J.; HORDYJEWICZ, Z.; SCHLAAD, H. Toward a toolbox of functional block copolymers via free-radical addition of mercaptans. **Polymer,** v. 46, p. 12057–12064, 2005.

KADITI, E. et al. Block Copolymers for Drug Delivery Nano Systems (DDnSs). **Current Medicinal Chemistry,** v. 19, p. 5088-5100, 2012.

KALAJI, N. et al. Controlled release carriers of growth factors FGF-2 and TGFß1: synthesis, characterization and kinetic modeling. **Journal of Biomedical Nanotechnology,** v. 6, p. 106-116, 2010.

KALELE, S.; NARAIN, R.; KRISHNAN, K. M. Probing temperature-sensitive behavior of pNIPAAm-coated iron oxide nanoparticles using frequency-dependent magnetic measurements. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials,** v. 321, p. 1377–1380, 2009.

KEDDIE, D. J. A guide to the synthesis of block copolymers using reversible-addition fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization. **Chem. Soc. Rev.,** v. 43, p. 496—505, 2014.

KEDDIE, D. J. et al. RAFT Agent Design and Synthesis. **Macromolecules,** v. 45, p. 5321–5342, 2012.

KEERL, M.; RICHTERING, W. Synergistic Depression of Volume Phase Transition Temperature in Copolymer Microgels. **Colloids and Polymer Science,** v. 285, p. 471-474, 2007.

KIRSH, Y. E.; YANULA, N. A.; KALNINSH K. K. Structural transformations and water associate interactions in poly-N-vinylcaprolactam-water system. **European Polymer Journal,** v. 35, p. 305 - 316, 1999.

KOJIMA, Y. et al. Effects of spray drying process parameters on the solubility behavior and physical stability of solid dispersions prepared using a laboratory-scale spray dryer. **Drug Development and Industrial Pharmacy,** v. 39, p. 1484–1493, 2013.

KONAK, C.; PANEK, J.; HRUBY, M. Thermoresponsive polymeric nanoparticles stabilized by surfactants. **Colloids and Polymer Science,** v. 285, p. 1433-1439, 2007.

KOYNOVA, R.; TENCHOV, T. Recent Progress in Liposome Production, Relevance to Drug Delivery and Nanomedicine. **Recent Patents on Nanotechnology,** v. 9, 2015.

KOZANOGLU, S.; OZDEMIR, T.; USANMAZ, A. Polymerization of N-Vinylcaprolactam and Characterization of Poly(N-Vinylcaprolactam). **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry,** v. 48, p. 467–477, 2011.

KREUTER, J. Nanoparticles a historical perspective. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 331, p. 1–10, 2007.

KRZYSZTOF, C.; KRZYSZTOF, S. Spray drying technique. I: Hardware and process parameters. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, p. 575–586, 2010.

KUMAR, M. N. V. R. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 331, p. 1–10, 2000.

LANDFESTER, K. **Miniemulsion polymerization and the structure of polymer and hybrid nanoparticles miniemulsion polymerization**. Weinheim: Wiley-VCH, 2009. v. 48, p. 4488–4507.

LANGER, R. et al. Medical reactors. **Chemical Engineering Science**, v. 45, p. 1967-1978, 1990.

LASSALLE, V.; FERREIRA, M. L. PLA Nano- and microparticles for drug delivery: an overview of the methods of preparation. **Macromolecular Bioscience,** v. 7, p. 767–783, 2007.

LAUKKANEN, A. et al. Formation of Colloidally Stable Phase Separated Poly(N-vinylcaprolactam) in Water: A Study by Dynamic Light Scattering, Microcalorimetry, and Pressure Perturbation Calorimetry. **Macromolecules,** v. 37, p. 2268-2274, 2004.

LAUKKANEN, A. et al. Thermosensitive graft copolymers of an amphiphilic macromonomer and N-vinylcaprolactam: synthesis and solution properties in dilute aqueous solutions below and above the LCST. **Polymer**, v. 46, p. 7055–7065, 2005.

LAUZIER, C. et al.Hydrolytic degradation of isolated poly(β-hydroxybutyrate) granules. **Polymer,** v. 35, p. 4156-4162, 1994.

LAVASANIFAR, A.; SAMUEL, J.; KWONB, G. S. Poly(ethylene oxide)-block-poly(L-amino acid) micelles for drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews,** v. 54, p. 169–190, 2002.

LAZZARI, M.; LIU, G.; LECOMMANDOUX, S. (Ed.). **Block copolymers in nanoscience**. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. p. 428.

LEE, S. H. et al. Nano spray drying: A novel method for preparing protein nanoparticles for protein therapy. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 403, p. 192–200, 2011.

LEROUX, J. C. et al. New approach for the preparation of nanoparticles by an emulsification-diffusion method. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,** v. 41, p. 14–18, 1995.

LI, X. et al. Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano Spray Dryer B-90. **Journal of Controlled Release,** v. 147, p. 304–310, 2010.

LIN, M. C. et al. Critical Analysis of the Crystal Orientation Behavior in Polyethylene-Based Crystalline-Amorphous Diblock Copolymer. **The Journal of Physical Chemistry B,** v. 115, p. 2494–2502, 2011.

LIU, J. et al. Gold Nanorods coated with a Thermo-responsive Poly(ethylene glycol)-b-poly(N-vinylcaprolactam) Corona as Drug Delivery System for Remotely Near Infrared-Triggered Release. Supporting information. **Polym. Chem.,** v. 5, p. 799, 2014.

LIU, J. et al. Poly(n-vinylcaprolactam): a thermoresponsive macromolecule with promising future in biomedical field. **Advanced Healthcare Materials,** p. 1-28, 2014.

LIU, P. et al. Synthesis of telechelic methacrylate oligomers with carboxyl ends through radical polymerization-chemical modification. **European Polymer Journal,** v. 38, p. 1783-1789, 2002.

LIU, R.; FRAYLICH, M.; SAUNDERS, B. R. Thermoresponsive copolymers: from fundamental studies to applications. **Colloid Polym Sci.,** v. 287, p. 627–643, 2009.

LIU, X. Y. et al. Preparation and characterization of novel thermoresponsive gold nanoparticles and their responsive catalysis properties. **Journal of Materials Chemistry,** v. 20, p. 360–368, 2010,

LU, Z.R; YE, F.; VAIDYA, A. Polymer Platforms for Drug Delivery and Biomedical Imaging. **Journal of Controlled Release,** v. 122, p. 269–277, 2007.

MAEDA, Y.; YAMAMOTO, H.; IKEDA, I. Effects of Ionization of Incorporated Imidazole Groups on the Phase Transitions of Poly(N-isopropylacrylamide), Poly(N,N-diethylacrylamide), and Poly(N-vinylcaprolactam) in Water. **Langmuir,** v. 17, p. 6855-6859, 2001.

MAHAKAL, A. Carriers for cancer drug therapy. **World Journal of Pharmaceutical Research,** v. 4, p. 541-558, 2015.

MALODE, P. B. et al. Newer Techniques to Enhance the Bioavailability of Hydrophobic Drugs by Means of Solubility Enhancement: A Review. **American Journal of Pharm Tech Research,** v. 4, 2014.

MARGARIT, M. V; RODRIGUEZ, I. C.; CEREZO, A. Physical characteristics and dissolution kinetics of solid dispersions of ketoprofen and polyethylene glycol 6000. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 108, p. 101 -107, 1994.

MARK, HERMAN F. **Encyclopedia of polymer Science and technology.** 3rd ed. Hoboken, New Jersey: Wiley, 2004. v. 9, p. 805.

MARTINS, K. F. **Obtenção e caracterização de microesferas do copolímero PLDLA contendo paclitaxel.** 2013, 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais) – Universidade Federal de São Carlos, Socoraba, São Paulo, 2013.

MATSUDA, T. Device-directed therapeutic drug delivery systems. **Journal of Controlled Release,** v. 78, p. 125-131, 2002.

MATYJASZEWSKI, K.; DAVIS, T. P. (Ed.). **Handbook of Radical Polymerization.** New York: Wiley-Interscience, 2002.

MAVRIDIS, I. M.; YANNAKOPOULOU, K. Anionic cyclodextrins as versatile hosts for pharmaceutical nanotechnology: synthesis, drug delivery, enantioselectivity, contrast agents for MRI. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 492, p. 275–290, 2015.

MCDANIEL, J. R.; DEWHIRST, M. W.; CHILKOTI, A. Actively targeting solid tumours with thermoresponsive drug delivery systems that respond to mild hyperthermia. **International Journal of Hyperthermia,** v. 29, p. 501–510, 2013.

MEDEIROS, S. F. et al. Solution polymerization of N-vinylcaprolactam in 1,4-dioxane. Kinetic dependence on temperature, monomer, and initiator concentrations. **Journal of Applied Polymer Science,** v. 118, p. 229–240, 2010.

MEDEIROS, S. F. et al. Stimuli-responsive magnetic particles for biomedical applications. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 403, p. 139–161, 2011.

MEEUS, J. et al. The Influence of Spray-Drying Parameters on Phase Behavior, Drug Distribution, and In Vitro Release of Injectable Microspheres for Sustained Release. **Journal of Pharmaceutical Sciences,** v. 104, p. 1451–1460, 2015.

MEEUSSEN, F. et al. Phase behaviour of poly(N-vinyl caprolactam) in water. **Polymer,** v. 41, p. 8597–8602, 2000.

MEYER, D. E. et al. Drug targeting using thermally responsive polymers and local hyperthermia. **Journal of Controlled Release,** v. 74, p. 213–224, 2001.

MIDDLETON, J. C.; TRIPTON, A. J. Synthetic Biodegradable Polymers as Medical Devices. **Medical Device and Disgnostic industry**. 1998. Disponível em: <http://www.mddionline.com/article/synthetic-biodegradable-polymers-medical-devices>. Acesso em: 03 abr. 2013.

MISHRA, A. K. et al. Synthesis of Well-Defined Amphiphilic Poly(ε-caprolactone)-b-poly-(N-vinylpyrrolidone) Block Copolymers via the Combination of ROP and Xanthate-Mediated RAFT Polymerization. **Macromolecules,** v. 44, p. 2465–2473, 2011.

MIYATA, K.; CHRISTIE, R. J.; KATAOKA, K. Polymeric micelles for nano-scale drug delivery. **Reactive & Functional Polymers,** v. 71, p. 227–234, 2011.

MOAD, G. et al. Advances in Switchable RAFT Polymerization. **Macromol. Symp.,** v. 350, p. 34–42, 2015.

MOAD, G.; RIZZARDO, E.; THANG, S. H. Living Radical Polymerization by the RAFT Process – A Third Update. **Aust. J. Chem.,** v. 65, p. 985–1076, 2012.

MOAD, G.; RIZZARDO, E.; THANG, S. H. Radical addition-fragmentation chemistry in polymer synthesis. **Polymer,** v. 49, p. 1079 - 1131, 2008.

MOINARD-CHECOT, D. et al. Nanoparticles for drug delivery: review of the formulation and process difficulties illustrated by the emulsion-diffusion process. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology,** v. 6, p. 2664–2681, 2006.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 385, p. 113–142, 2010.

MUJUMDAR, A. S. (Ed.) **Handbook of industrial drying.** 4th ed. New York: CRC Press, 2015. 1179 p.

MUNDARG, R. C. et al. Nano/Micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. **Journal of Controlled Release**, v. 124, p. 193 – 209, 2008.

MUNDY, B. P.; ELLERD, M. G.; FAVALORO, F. G. **Name reactions and reagents in organic synthesis.** 2nd ed. New Jersey: John Wiley, 2005, 72 p.

NA, K.; SETHURAMAN, V. A.; BAE, Y. H. Stimuli-sensitive polymeric micelles as anticancer drug carries. **Anti-cancer Agents in Medical Chemistry**, v. 6, p. 525-535, 2006.

NAKABAYASHI, K.; MORI H. Recent progress in controlled radical polymerization of N-vinyl monomers. **European Polymer Journal,** v. 49, p. 2808-2838, 2013.

NICOLAS, J. et al. Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery. **Chem. Soc. Rev.,** v. 42, p. 1147-1235, 2013.

OLABISI, O.; ADEWALE, K. (Ed). **Handbook of Thermoplastics**. 2dn, Boca Raton: CRC Press, 2015. 994 p.

OLIVEIRA, A. M. et al. Nano Spray Drying as an Innovative Technology for Encapsulating Hydrophilic Active Pharmaceutical Ingredients (API). **Journal Nanomed Nanotechnol,** v. 4, 2013.

OLIVEIRA, M. P. **Síntese e caracterização de látices acrílicos funcionalizados com diferentes ácidos carboxílicos.** 2004. 137 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Departamento de Engenharia de Materiais, Escola de Engenharia de Lorena, Lorena, São Paulo, 2004.

OZDIL, D.; AYDIN, H. M. Polymers for medical and tissue engineering applications. **J Chem Technol Biotechnol,** v. 89, p. 1793–1810, 2014.

PARAISO, R. L. M. **Determinação da solubilidade e permeabilidade de fármacos conforme o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB).** 2012, 137 f. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

PARK, K. M. et al. In Situ Forming Hydrogels Based on Tyramine Conjugated 4-Arm-PPO-PEO via Enzymatic Oxidative Reaction. **Biomacromolecules,** v. 11, p. 706–712, 2010.

PARK, W. Recent advances in utilization of photochemical internalization (PCI) for efficient nano carrier mediated drug delivery. **Biomaterials and Biomedical Engineering,** v. 2, p. 1-13, 2015.

PAUDEL, A. et al. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. International **Journal of Pharmaceutics,** v. 453, p. 253– 284, 2013.

PESYAN, N. N. et al. New fatty acid derivatives based on barbiturates and other cyclic b-dicarbonyl compounds and an acyl migration. **Journal Iranian Chemical Society,** v. 11, p. 1429–1437, 2014.

PIELICHOWSKI, K.; FLEJTUCH, K. Differential scanning calorimetry studies on poly(ethylene glycol) with different molecular weights for thermal energy storage materials. **Polymer for advanced Technologies,** v. 13, p. 690 - 696, 2002.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova,** v. 38, p. 957-971, 2015.

PISANI, E. et al. Surfactant dependent morphology of polymeric capsules of perfluorooctyl bromide: Influence of polymer adsorption at the dichloromethane–water interface. **Journal of Colloid and Interface Science,** v. 326, p. 66–71, 2008.

POLLOTH, C. F. Safety assessment on polyethylene glycols (PEGs) and their derivatives as used in cosmetic products. **Toxicology,** v. 214, p. 1–38, 2005.

PRABAHARAN, M. et. al. Thermosensitive Micelles Based on Folate-Conjugated Poly(N-vinylcaprolactam)-block-Poly(ethylene glycol) for Tumor-Targeted Drug Delivery. **Macromolecular Bioscience,** v. 9, p. 744–753, 2009.

QIN, S. et al. Temperature-Controlled Assembly and Release from Polymer Vesicles of Poly(ethylene oxide)-block-poly(N-isopropylacrylamide). **Adv. Mater**., v. 18, p. 2905–2909, 2006.

RABANEL, J. M.; HILDGEN, P. BANQUY, X. Assessment of PEG on polymeric particles surface, a key step in drug carrier translation. **Journal of Controlled Release,** v. 185, p. 71–87, 2014.

REJINOLD, N. R. et al. Biodegradable and thermo-sensitive chitosan-g-poly(N-vinylcaprolactam) nanoparticles as a 5-fluorouracil carrier. **Carbohydrate Polymers,** v. 83, p. 776–786, 2011.

RONALD, A. S. Stimuli sensitive polymers and self-regulated drug delivery systems: A very partial review. **Journal of Controlled Release,** v. 190, p. 337–351, 2014.

ROSTAMI, E. et al. Drug targeting using solid lipid nanoparticles. **Chemistry and Physics of Lipids,** v. 181, p. 56–61, 2014.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QINN, M. E. (Ed.) **Handbook of pharmaceutical excipients.** 6th ed. London: Pharmaceutical Press, 2009. p. 888.

SAN MIGUEL, V. et al. Biodegradable and thermoresponsive micelles of triblock copolymers based on 2-(N,N-dimethylamino)ethyl methacrylate and epsilon-caprolactone for controlled drug delivery. **European Polymer Journal,** v. 44, p. 3853–3863, 2008.

SARRATE, R. et al. Modification of the morphology and particle size of pharmaceutical excipients by spray drying technique. **Powder Technology,** v. 270, p. 244–255, 2015.

SARTORI, S. et al. Biodegradable plaxcitel-loaded microparticle prepared from novel block copolymer : influence of polymer composition on drug encapsulation and release. **Journal of Science**, v. 19, p. 205-213, 2013.

SCHAFROTH, N. et al. Nano and microparticle engineering of water insoluble drugs using a novel spray-drying process. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,** v. 90, p. 8–15, 2015.

SCHAFROTH, N. et al. Nano and microparticle engineering of water insoluble drugs using a novel spray-drying process. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,** v. 90, p. 8–15, 2012.

SCHATTLING, P.; JOCHUM, F. D.; THEATO, P. Multi-stimuli responsive polymers–the all-in-one talents. **Polymer Chemistry,** v. 5, p. 25-36, 2014.

SCHATTLING, P.; JOCHUMA, F. D.; THEATO, P. Multi-responsive copolymers: using thermo-, light- and redox stimuli as three independent inputs towards polymeric information processing. **Chem. Commun.,** v. 47, p. 8859–8861, 2011.

SCHATTLING, P.; JOCHUMA, F. D.; THEATO, P. Multi-stimuli responsive polymers – the all-in-one talents. **Polymer Chemistry,** v. 5, p. 25-36, 2014.

SCHMALJOHANN, D. Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews,** v. 58, p. 1655–1670, 2006.
SCHMID, K.; ARPAGAUS, C.; FRIESS, W. Evaluation of the Nano Spray Dryer B-90 for pharmaceutical applications. **Pharmaceutical Development and Technology,** v. 16, p. 287–294, 2011.

SENTHILNATHAN, B. et al. Review on various approaches on preparation, characterisation and applications of polymeric nanoparticles. **World Journal of Pharmaceutical Research,** v. 4, p. 645-663, 2015.

SEURING, J.; AGARWAL, S. Polymers with upper critical solution temperature in aqueous solution. **Macromolecular Rapid Communications,** v. 33, p. 1898–1920, 2012.

SHEIKH, M. C. et al. Mechanistic studies of DCC/HOBt-mediated reaction of 3-phenylpropionic acid with benzyl alcohol and studies on the reactivities of‘active ester’ and the related derivatives with nucleophiles. **Tetrahedron,** v. 66, p. 7272-7278, 2010.

SHRIVASTAVA, A. K. et al. Nanoparticles as an advanced drug delivery system. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,** v. 3, p. 479-499, 2014.

SHTANKO, N. I. et al. pH- and thermo-responsive properties of poly(N-vinylcaprolactam-co-acrylic acid) copolymers. **Polymer International,** v. 52, p. 1605-1610, 2003.

SIMIONI, A. R. et al. PHBHV/PCL microspheres as biodegradable drug delivery vsystems (DDS) for photodynamic therapy (PDT). **Journal of Materials Science,** v. 43, p. 580-584, 2008.

SINGH, A.; GARG, G.; SHARMA, P. Nanospheres: a novel approach for targeted drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research,** v. 5, p. 84-88, 2010.

SOARES, P. P. **Síntese, caracterização e organização coloidal de copolímeros assimétricos PETMA-B-PS E PS-B-PAA-B-PS**. 2010, 69 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2010.

SOSNIK, A.; SEREMETA, K. P. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. **Advances in Colloid and Interface Science,** v. 223, p. 40–54, 2015.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir de Polímeros Pré-formados – Parte II. **Polímeros,** v. 22, p. 101-106, 2012.

SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Microencapsulation of Ketoprofen in Blends of Acrylic Resins by Spray Drying. **Drying Technology**, v. 30, p. 263–275, 2012.

SPEVACEK, J. et al. Temperature-induced phase separation and hydration in poly(N-vinylcaprolactam) aqueous solutions: a study by NMR and IR spectroscopy, SAXS, and quantum-chemical calculations. **Soft Matter,** v. 8, p. 6110–6119, 2012.

STUART, B. H. **Polymer Analysis**. New York: Wiley, 2002. 304 p.

SWEETMAN, SEAN C. et al. Martindale: the complete drug reference. 36. ed. London: **Pharmaceutical Press,** v. 2, 3694 p., 2009.

TADAAKI, I. et al. Temperature sensitivity of a hydrogel network containing different LCST oligomers grafted to the hydrogel backbone. **Polymer Gels Networks,** v. 5, p. 561-575, 1998.

TASDELEN, M. A.; KAHVECI, M. U.; YAGCI, Y. Telechelic polymers by living and controlled/living polymerization methods. **Progress in Polymer Science,** v. 36, p. 455-567, 2011.

TEMBA, E. S. C.; OLIVEIRA, I. M. F.; DONNICI, C. L. Álcoois quirais: métodos químicos e catalíticos de obtenção por redução assimétrica. **Química Nova,** v. 26, p. 112-122, 2003.

TERENCE, M. C. **Obtenção de um sistema de liberação controlada de drogas a partir do pval irradiado com radiação gama.** 2002, 119 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

THOMAS, A.; MULLER, S. S.; FREY, H. Beyond poly(ethylene glycol): linear polyglycerol as a multifunctional polyether for biomedical and pharmaceutical applications. **Biomacromolecules,** v. 15, p. 1935–1954, 2014.

TIETZE, R. et al. Magnetic nanoparticle-based drug delivery for cancer therapy. **Biochemical and Biophysical Research Communications,** p. 1-8, 2015.

TINGHUA WANG, T. et al. Crystallization and morphology transition of P2VP-b-PEO block copolymer micelles composed of an amorphous core and a crystallizable corona. **Polym. Bull.,** 2015.

TOPUZOGULLARI, M. et al. pH and temperature-responsive amphiphilic diblock copolymers of oligoethyleneglycol methacrylate synthesized by RAFT polymerization. **Polymer,** v. 55, p. 525-534, 2014.

TORCHILIN, V. Micellar Nanocarriers: Pharmaceutical Perspectives. **Pharmaceutical Research,** v. 24, n. 1, p. 1-16, 2007.

TRUONG-LE, V.; LOVALENTI, P. M.; ABDUL-FATTAH, A. M. Stabilization challenges and formulation strategies associated with oral biologic drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews,** p. 1-14, 2015.

UHRICH, K. E. et al. Polymeric Systems for Controlled Drug Release. **Chemical Reviews,** v. 99, n. 11, p. 3181-3198, 1999.

VANDERHOFF, J, W.; EL AASSER, M, S.; UGELSTAD, J. Polymer emulsification process. **US Patent 4177177 A,** 1979.

VERT, M. et al. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). **Pure Appl. Chem.,** v. 84, p. 377–410, 2012.

VIHOLA, H.; et al. Cytotoxicity of thermosensitive polymers poly(N-isopropylacrylamide), poly(N-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified poly(N-vinylcaprolactam). **Biomaterials**, v. 26, p. 3055-3064, 2005.

VO, C. L.N.; PARK, C.; LEE, B. J. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,** v. 85, p. 799–813, 2013.

WANG, Q.; TANG, H.; WU P. Dynamic Phase Transition Behavior and Unusual Hydration Process in Poly(ethylene oxide)-b-Poly(N-vinylcaprolactam) Aqueous Solution. **Journal of polymer science, part b: polymer physics.** p. 1 – 12, 2015.

WARDMAN, P.; VON SONNTAG, C. Kinetic factors that control the fate of thiyl radicals in cells. **Methods Enzymol.,** v. 251, p. 31–45, 1995.

WEIB, K.; PENGA, X.; ZOUA, F. Folate-decorated PEG–PLGA nanoparticles with silica shells for capecitabine controlled and targeted delivery. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 464, p. 225–233, 2014.

WLODARSKI, K. et al. Physical stability of solid dispersions with respect to thermodynamic solubility of tadalafil in PVP-VA. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 96, p. 237–246, 2015.

WU, Q. et al. Synthesis and self-assembly of new amphiphilic thermosensitive poly(N-vinylcaprolactam)/poly(D,L-lactide) block copolymers via the combination of ring-opening polymerization and click chemistry. **Polym. Bull.** v. 72, p. 1449–1466, 2015.

WU, X; LI, S. Synthesis of polylactide/poly(ethylene glycol) diblock copolymers with functional end groups. **Polymer International,** v. 62, p. 1014–1021, 2013.

XIAO, L. et al. Role of cellular uptake in the reversal of multidrug resistance by PEG-b-PLA polymeric micelles. **Biomaterials**, v. 32, p. 5148-5157, 2011.

XIONG, X. B. et al. Engineering of amphiphilic block copolymers for polymeric micellar drug and gene delivery. **Journal of Controlled Release,** v. 155, p. 248–261, 2011.

XUE, B. et al. Temperature Controlled Water/Oil Wettability of a Surface Fabricated by a Block Copolymer: Application as a Dual Water/Oil On–Off Switch. **Adv. Mater**., v. 25, p. 273–277, 2013.

YAN, G.; ROBINSON, L.; HOGG, P. Magnetic resonance imaging contrast agents: Overview and perspectives. **Radiography**, v. 13, p. e5 - e19, 2007.

YAN, J. et al. Experimental and theoretical evaluation of nanodiamonds as pH triggered drug carriers. **New J. Chem.,** v. 36, p. 1479–1484, 2012.

YANG, X. Z. et al. Systemic delivery of siRNA with cationic lipid assisted PEG-PLA nanoparticles for cancer therapy. **Journal of Controlled Release**, v. 156, p. 203-211, 2011.

YANUL, N. A. et al. Thermoresponsive Properties of Poly(N-vinylcaprolactam)-Poly(ethylene oxide) Aqueous Systems: Solutions and Block Copolymer Networks. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 202, p. 1700-1709, 2001

YAO, F. et al. Synthesis and characterization of multiblock copolymers based onl-lactic acid, citric acid, and poly(ethylene glycol). **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry,** v. 41, p. 2073–2081, 2003.

YASUI, M. et al. Activity of enzymes immobilized on microspheres with thermosensitive hairs. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 8, p. 311-319, 1997.

YORK A. W. Advances in the synthesis of amphiphilic block copolymers via RAFT polymerization: stimuli-responsive drug and gene delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 1018-1036, 2008.

YOSHIDA, M. et al. A new biodegradable polydepsipeptide microsphere for application in drug delivery systems. **Colloid Polymer Science**, v. 268, p. 726-730, 1990.

YU, Y. C.; KANG, H. U.; YOUK, J. H. Synthesis and micellar characterization of thermosensitive amphiphilic poly(ε-caprolactone)-b-poly(N-vinylcaprolactam) block copolymers. **Colloids and Polymer Science,** v. 290, p.1107-1113, 2012.

ZHANG, C. Y. Self-assembled micelles based on ph-sensitive Pae-g-MPeg-cholesterol block copolymer for anticancer drug delivery. **International Journal of Nanomedicine,** v. 9, p. 4923–4933, 2014.

ZHANG, Q.; KO, N. R.; OH, J. K. Recent advances in stimuli-responsive degradable block copolymer micelles: synthesis and controlled drug delivery applications. **Chem. Commun**., v. 48, p. 7542–7552, 2012.

ZHANG, Y.; YANG, J. Design strategies for fluorescent biodegradable polymeric biomaterials. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 1, p. 132-148, 2013.

ZHAO, H. et al. A novel self-seeding polyol synthesis of Ag nanowires using mPEG-b-PVP diblock copolymer. **RSC Advances**. v. 4, p. 41927–41933, 2014.

ZHENG, X; POLLI, J. Synthesis and in vitro evaluation of potential sustained release prodrugs via targeting ASBT. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 396, p. 111-118, 2010.

ZHOU, D. et al. Unusual crystallization and melting behavior induced by microphase separation in MPEG-b-PLLA diblock copolymer. **Polymer**. v. 80, p.123 -129, 2015.

ZOU, H.; WANG, Z.; FENG, M. Nanocarriers with tunable surface properties to unblock bottlenecks in systemic drug and gene delivery. **Journal of Controlled Release,** v. 214, p. 121–133, 2015.