



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

**PREPARAÇÃO DE MICRO/NANOPARTÍCULAS DE POLIURETANO  
BIODEGRADÁVEL CARREADORAS DE ÓLEO DE AÇAÍ E  
 $\alpha$  – TOCOFEROL**

**FABIANA GONÇALVES DOS SANTOS**  
QUÍMICA INDUSTRIAL

**DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM ENGENHARIA E  
TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

**Porto Alegre**  
**Março, 2014**



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

# **PREPARAÇÃO DE MICRO/NANOPARTÍCULAS DE POLIURETANO BIODEGRADÁVEL CARREADORAS DE ÓLEO DE AÇAÍ E $\alpha$ – TOCOFEROL**

**FABIANA GONÇALVES DOS SANTOS**  
QUÍMICA INDUSTRIAL

ORIENTADOR: PROF(a). DR(a). ROSANE LIGABUE

CO-ORIENTADOR: Prof(a). Dr(a). SANDRA EINLOFT

Dissertação de Mestrado realizada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais (PGETEMA) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Tecnologia de Materiais.

**Porto Alegre  
Março, 2014**



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
 FACULDADE DE ENGENHARIA  
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

**PREPARAÇÃO DE MICRO/NANOPARTÍCULAS DE  
 POLIURETANO BIODEGRADÁVEL CARREADORAS DE ÓLEO  
 DE AÇAÍ E  $\alpha$  – TOCOFEROL**

**CANDIDATA: FABIANA GONÇALVES DOS SANTOS**

Esta Dissertação de Mestrado foi julgada para obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

**DRA. ROSANE ANGÉLICA LIGABUE – ORIENTADORA**

**DRA. SANDRA MARA OLIVEIRA EINLOFT - CO-ORIENTADORA**

**BANCA EXAMINADORA**

**DRA. VANUSCA DALOSTO JAHNO - DO PÓS GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE MATERIAIS - UNIVERSIDADE FEEVALE**

**DR. ROGÉRIO VESCIA LOUREGA - DO PGETEMA – PUCRS**

**DRA. TEMIS WEBER FURLANETTO CORTE - DA FACULDADE DE FARMÁCIA - PUCRS**

**PUCRS**

Campus Central  
 Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 30 - Sala 103 - CEP: 90619-900  
 Telefone: (51) 3353.4059 - Fax: (51) 3320.3625  
 E-mail: engenharia.pg.materiais@pucrs.br  
 www.pucrs.br/feng

*“O que importa é que o avanço de hoje seja maior que o de ontem. Que nossos passos de amanhã sejam mais largos que os de hoje... Atuem agora e vivam o presente com a certeza de que neste exato instante está se erguendo o futuro.”*  
*(Daisaku Ikeda)*



## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha mãe Ana Terezinha pelo apoio, por seu coração e amor incondicional, a minha avó Ceny (*in memoriam*) pelo carinho guardado no coração, ao meu padrinho Vitor Hugo pelo carinho e apoio sempre que precisei e a todos meus amigos e familiares que estiveram ao meu lado.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha preciosa família minha mãe Ana Terezinha, minha fortaleza, que sozinha com todo o seu amor e coração de tamanha pureza me passou como ser uma pessoa de valor e nunca, jamais desistir dos meus sonhos, agradeço a minha avó Ceny (*in memoriam*) que sempre com seu jeito cativante de viver a vida esteve ao meu lado em todos os momentos e até hoje vive em meu coração, ao dindo Vitor Hugo que da sua forma e carinho se doou como um pai pra mim, sempre que eu preciso está disposto a ajudar tenho toda gratidão.

Também agradeço a todos os tios e tias, primos e primas, afilhados e afillhadas, em especial à minha avó Sofia com a sua ternura sempre preocupada com minha saúde e bem estar, ao tio Mano que me salvou sempre que o meu computador resolveu dar problemas, vinha ele com sorriso no rosto e carinhoso como só ele é um tio pra lá de especial.

Agradeço aos meus amigos de todo o sempre, que me deram total apoio e incentivos e tiveram compreensão e companheirismo nos momentos em que não pude estar presente: Daiana, Tayane, Diego, Carolzinha, Simone, Déborah, Roberta, Gabrielle, Rhana, Anelise, Francine, Franciele, Cerejeiras, Grazi, João, Suzy, Marcelo, Marumi, Tatsumi, Ednéia, Renata, Samara, Elen, Helena, Dani, Vanessa, Vitor, Thiego, Lú, Carol, Gustavo, Zé entre muitos outros a amizade de vocês é um imensurável tesouro na minha vida.

Ao Dr. Daisaku Ikeda e Sr<sup>a</sup>. Kaneko Ikeda toda minha gratidão pelas orações enviadas com todo carinho e convicção no meu potencial e pelos incentivos diários em prol do meu sucesso.

Agradeço a minha orientadora Dr<sup>a</sup> Rosane Ligabue que com paciência, sinceridade e carinho me ofereceu apoio, incentivo, conhecimento e grandes oportunidades de aperfeiçoamento, assim como a co-orientação repleta de carinho e dedicação da Dr<sup>a</sup> Sandra Einloft, juntas me acompanham desde o inicio da minha

vida acadêmica (graduação e iniciação científica) foi através dos seus exemplos e incentivos que foi possível mais essa vitória, muito obrigada!

Agradeço aos amigos e colegas de trabalho do laboratório, Manoela, Guilherme, Juliana, Cláudia, Cristiane, Fabi, Estevão, Carone, Jessica, Aline, Marisol, Michele, Evandro, Thuany, Renata Fialho, Júlia, Wesley, entre outros, pelo coleguismo e risadas de sempre, agradeço também à Carol Gonsalves pela amizade e a grande ajuda nas análises.

Ao Leonardo (Leo) amigão, agradeço o apoio, companheirismo e ajuda nas análises e pela amizade, carinho e risadas para descontrair.

Em especial agradeço a minha amiga Franciele Longaray pelo companheirismo, carinho e amizade única e incondicional.

A Emanuelli pela amizade que fortalecemos nesses últimos anos de trabalho e ajuda ilimitada em todas as horas.

Agradeço aos professores e funcionários da Faculdade de Química da PUCRS, o pessoal do almoxarifado Luciana, Beto, Paulo e Fernando e Sr Nelson, aos funcionários do PGTEMA pelo conhecimento e apoio, em especial o professor Tiziano que colaborou pra realização do trabalho, ao professor Rogério que participou com suas sugestões e ensinamentos de grande ajuda no anteprojeto, e a professora Jeane pelos ensinamentos e bom humor.

A empresa Beraca Sabara pela doação do óleo de açaí indispensável para realização desse trabalho.

Agradeço ao INTOX (Instituto de Toxicologia e Farmacologia da PUCRS) pela colaboração com as análises com CLAE e ao ITT-FUSE (Instituto Tecnológico em Ensaio e Segurança Funcional) – Unisinos pelo auxílio com as análises de MEV, ao Eduardo (ITT-FUSE) por sua atenção incondicional e profissionalismo durante as análises e pela amizade.

Por fim, agradeço a todos de que de alguma maneira contribuíram para elaboração desse trabalho.

## SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA</b> .....	<b>5</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>6</b>
<b>SUMÁRIO</b> .....	<b>9</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>11</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>14</b>
<b>LISTA DE QUADROS</b> .....	<b>15</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS</b> .....	<b>16</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>18</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>19</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
2.1. Objetivos Específicos .....	22
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>23</b>
3.1. Biomateriais Poliméricos .....	23
3.2. Poliuretano.....	24
3.3. Micro e Nanopartículas.....	26
3.4. Métodos de Encapsulamento.....	29
3.4.1. Técnicas de Agitação Ultrassom e Ultra-turrax .....	31
3.5. Meio Oleoso - Óleo Açaí .....	33
3.6. Substância Ativa – $\alpha$ -Tocoferol .....	36
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
4.1. Materiais .....	39
4.2. Estudo preliminar da preparação das Micro/nanopartículas .....	40
4.3. Preparação das Micro/nanopartículas de PU .....	40
4.4. Recuperação e Eficiência de Encapsulamento.....	43
4.4.1. Preparação das Amostras para Quantificação em UV-Vis e CLAE.....	43
4.5. Técnicas de Caracterização .....	46
4.5.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	46
4.5.2. Termogravimetria (TGA) .....	46
4.5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	46
4.5.4. Liberação do $\alpha$ -TOC <i>in vitro</i> .....	47
4.5.5. Espectroscopia no Ultravioleta-Visível (UV-Vis) .....	47
4.5.6. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....	47

<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>49</b>
5.1. Estudo da preparação das Micro/nanopartículas.....	49
5.2. Recuperação e Eficiência de Encapsulamento.....	51
5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura e Distribuição de Tamanho de Partículas.....	53
5.4. Liberação de $\alpha$ -TOC <i>in vitro</i> .....	56
5.5. Infravermelho das Micro/nanopartículas de PU/ $\alpha$ -TOC.....	61
5.6. Microscopia de Varredura Eletrônica das Micro/nanopartículas após a Liberação do $\alpha$ -TOC 65	
5.7. Análise Termogravimétrica das Micro/nanopartículas após a liberação do $\alpha$ -TOC .....	70
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>75</b>
<b>7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>77</b>
<b>8. PUBLICAÇÕES DESTE TRABALHO .....</b>	<b>78</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>88</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Esquema de reação para formação de poliuretano (Chattopadhyay et al, 2009).....	25
Figura 3.2. Esquema das nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido à parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas (Schaffazick et al., 2003).....	28
Figura 3.3. Representação esquemática de algumas técnicas de preparação de nanopartículas poliméricas. Fonte: Adaptado de Rao, et al. 2011. ....	29
Figura 3.4. Representação esquemática da técnica de emulsão múltipla/evaporação do solvente. Fonte: Adaptado de Musyanovych, et al. (2008).....	30
Figura 3.5. Micrografias de micropartículas de PCL obtidas por ultra-turrax. Fonte: Ibraheem et al., 2014. ....	32
Figura 3.6. Micrografias de nanopartículas com $\alpha$ -TOC obtidas por ultrassom, a)1min de agitação, b)2min agitação, c)3min agitação. Fonte: Byun et al., 2011.	33
Figura 3.7. Fruta açaí e óleo açaí extraído. Fonte: Beraca, 2012. ....	34
Figura 3.8. Micrografias das dispersões (A) com óleo Miglyol 812, escala 0,5 $\mu\text{m}$ e (B) com óleo de açaí, escala 0,5 $\mu\text{m}$ . Fonte: Velho, 2011.....	36
Figura 3.9. Molécula do $\alpha$ -TOC .....	37
Figura 3.10. Mecanismo da ação do $\alpha$ -TOC com radicais livres (Djavanja, 2011)....	37
Figura 3.12. Micrografias obtidas por MEV de nanocápsulas carregadas com vitamina E obtidas por: (a) escala laboratorial e (b) escala piloto. Fonte: Kahayata et al., 2012. ....	38
Figura 4.1. Fluxograma etapas síntese NP de poliuretano carregadas de $\alpha$ -TOC....	41
Figura 4.2. Curva de $\alpha$ -TOC obtida por CLAE e a equação de regressão. ....	45
Figura 4.3. Curva de $\alpha$ -TOC obtida por UV-Visível e a equação de regressão.....	45

Figura 5.1. Micrografias das micro/nanopartículas formadas por PU/ $\alpha$ -TOC usando diferentes surfactantes (SDS e Tween80) e diferentes tempos de agitação.....	50
Figura 5.2. Termogramas das micro/nanopartículas formadas por PU/ $\alpha$ -TOC usando diferentes percentuais iniciais de poliuretano.....	51
Figura 5.3. Micrografias das micro/nanopartículas de PU/ $\alpha$ -tocoferol: a) SM C/ÓLEO (4000 x) b) TR C/ÓLEO (4000 x), c) SM S/ÓLEO (4000 x), d) TR S/ÓLEO (1000 x).....	54
Figura 5.4. Distribuição de tamanho de partículas das amostras SM C/ÓLEO e SM S/ÓLEO.....	55
Figura 5.5. Distribuição de tamanho de partículas das amostras TR C/ÓLEO e TR S/ÓLEO.....	56
Figura 5.6. Quantidade de $\alpha$ -TOC liberado (mg/mL) das micro/nanopartículas no intervalo de 4 a 30 dias via degradação hidrolítica.....	57
Figura 5.7. Variação de massa (%) das micro/nanopartículas com o tempo de degradação (4 a 30 dias). ....	59
Figura 5.8. Variação do pH das soluções de degradação/ liberação de $\alpha$ -TOC das micro/nanopartículas de 0 a 30 dias.....	60
Figura 5.9. Espectros de infravermelho dos materiais: $\alpha$ -TOC, óleo de açaí e poliuretano.....	61
Figura 5.10. Espectros de infravermelho das micro/nanocápsulas: SM C/ÓLEO original e de 6, 12, 20 e 30 dias de liberação.....	63
Figura 5.11. Espectros de infravermelho das micro/nanocápsulas: SM S/ÓLEO original e de 6, 12, 20 e 30 dias de liberação.....	63
Figura 5.12. Espectros de infravermelho das micro/nanocápsulas: TR C/ÓLEO original e de 6, 12, 20 e 30 dias de liberação.....	64
Figura 5.13. Espectros de infravermelho das micro/nanocápsulas: TR S/ÓLEO original e de 6, 12, 20 e 30 dias de liberação.....	64
Figura 5.14. Micrografias das micro/nanocápsulas SM C/ÓLEO em 4, 6, 10, 12, 20 e 30 dias no ensaio hidrolítico.....	66
Figura 5.15. Micrografias das micro/nanocápsulas SM S/ÓLEO em 4, 6, 10, 12, 20 e 30 dias no ensaio hidrolítico.....	67



Figura 5.16. Micrografias das micro/nanocápsulas TR C/ÓLEO em 4, 6, 10, 12, 20 e 30 dias no ensaio hidrolítico.....	68
Figura 5.17. Micrografias das micro/nanocápsulas TR S/ÓLEO em 4, 6, 10, 12, 20 e 30 dias no ensaio hidrolítico.....	69
Figura 5.18. Termogramas de SM C/ÓLEO e com 6, 12, 20 e 30 dias de degradação hidrolítica.....	71
Figura 5.19. Termogramas de SM S/ÓLEO e com 6, 12, 20 e 30 dias de degradação hidrolítica.....	71
Figura 5.20. Termogramas de TR C/ÓLEO e com 6, 12, 20 e 30 dias de degradação hidrolítica.....	72
Figura 5.21. Termogramas de TR S/ÓLEO e com 6, 12, 20 e 30 dias de degradação hidrolítica.....	72

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Composição de ácidos graxos e tocoferóis (antioxidantes) do óleo de açaí. ....	34
Tabela 3.2. Influência da natureza do óleo comparando miglyol 812 e óleo de açaí (Fonte: Velho, 2011).....	35
Tabela 4.1. Quantidade dos reagentes utilizados na preparação das micro/nanopartículas .....	40
Tabela 4.2. Quantidade dos reagentes utilizados na preparação das micro/nanopartículas .....	42
Tabela 5.2. Recuperação (%) de $\alpha$ -TOC.....	51
Tabela 5.3. Eficiência de encapsulamento em % de $\alpha$ -TOC.....	52
Tabela 5.4. Atribuições das bandas referentes aos espectros do poliuretano, $\alpha$ -TOC e óleo de açaí.....	62
Tabela 5.5. Tabela de resíduos (%) para micro/nanopartículas preparadas com ultraturrax. ....	73
Tabela 5.6. Tabela de resíduos (%) para micro/nanopartículas preparadas com ultrassom.....	74

## LISTA DE QUADROS

Quadro 4.1. Identificação das micro/nanocápsulas conforme o equipamento utilizado e presença de óleo de açaí.....	41
---	----

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A	Fase aquosa
A/O	Emulsão (mistura fase aquosa e fase oleosa)
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
$\alpha$ -TOC	Alfa- tocoferol/ Vitamina E
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
EE	Eficiência de encapsulamento
H <sub>12</sub> MDI	4,4-Diciclohexilmetileno diisocianato
HDI	1,6-Hexametileno diisocianato
IV	Espectroscopia de infravermelho
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MM	Massa molar
Mn	Massa molecular numérico médio
Mw	Massa molecular ponderal médio
NC	Nanocápsulas
NE	Nanoesferas
NP	Micro/nanopartículas
O	Fase oleosa
PBS	Tampão fosfato-salino
%	Percentual
PEG	Polietilenoglicol
PCL	Poli (caprolactona)
PLGA	Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico)
PTFE	Poli (tetrafluoroetileno)
PU	Poliuretano
PU's	Poliuretanos
SM	Ultrassom
SM C/ ÓLEO	Micropartículas preparadas com óleo e com Ultrassom
SM S/ ÓLEO	Micropartículas preparadas sem óleo e com Ultrassom
TGA	Análise termogravimétrica
DTGA	1ª Derivada termogravimétrica

THF      Tetrahidrofurano

TR        Ultra-turrax

TR C/ÓLEO Micropartículas preparadas com óleo e com Ultra-turrax

TR S/ÓLEO Micropartículas preparadas sem óleo e com Ultra-turrax

UV-Vís.    Espectroscopia no ultravioleta-visível

## RESUMO

GONÇALVES DOS SANTOS, FABIANA. **Produção de Micro/Nanopartículas de Poliuretano Biodegradável Carreadoras de Óleo de Açaí e  $\alpha$ -Tocoferol**. Porto Alegre. 2014. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

Pesquisas em nanotecnologia aliada aos estudos dos biopolímeros possibilitaram avanços para aplicação na área médica/farmacêutica. Sistemas de micro/nanopartículas (NP) com polímeros biodegradáveis são promissores na liberação controlada de fármacos na forma de nanocápsulas (NC) ou de nanoesferas (NE), capaz de proteger/liberar a substância gradativamente. Este trabalho tem como objetivo preparar NP de poliuretano (PU-  $M_w= 224.973$  g/mol e  $M_n=134.670$  g/mol) para o encapsulamento por emulsão múltipla do fármaco  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -TOC) com e sem óleo de açaí e com diferentes técnicas de agitação (ultra-turrax (TR) e ultrassom (SM) ), bem como, o estudo de liberação controlada em meio fisiológico. Os tamanhos médios das NP obtidas foram entre 600nm e 10  $\mu$ m utilizando o SM e entre 2-15  $\mu$ m utilizando o TR e apresentaram morfologia esférica e distribuições variáveis em função da presença ou não de óleo de açaí. Também foi possível detectar a presença de  $\alpha$ -TOC e óleo de açaí (quando presente) em todas as NP's, assim como a degradação do PU e liberação do  $\alpha$ -TOC através das técnicas de UV-Vis, TGA e IV. A eficiência de encapsulamento do  $\alpha$ -TOC foi moderada, variando entre 15 a 34% para as NP's obtidas por TR e entre 18 a 44% para as NP's obtidas por SM, devido à afinidade deste composto hidrofóbico pelo PU. A quantidade de  $\alpha$ -TOC inicialmente adicionada nas formulações obteve também elevadas taxas de recuperação, variando entre 93-96%. As NP's apresentaram uma perda de massa abaixo de 4% quando expostos a degradação hidrolítica até 30 dias. As amostras TR S/ÓLEO e SM C/ÓLEO apresentaram liberação crescente de  $\alpha$ -TOC a partir do 12º dia, enquanto que as NP's TR C/ÓLEO e SM S/ÓLEO apresentaram liberação constante até 30º dia. Os resultados indicam que a presença de óleo e utilização de SM mostraram-se mais eficiente na formação das NP's.

Palavras-Chaves: nanopartículas, poliuretano,  $\alpha$ -tocoferol, óleo de açaí.

## ABSTRACT

GONÇALVES DOS SANTOS, FABIANA. **Production of Micro / nanoparticles biodegradable polyurethane carrier açai oil and  $\alpha$ -tocopherol.** Porto Alegre. 2014. Master. Graduation Program in Materials Engineering and Technology, PONTIFICAL CATHOLIC UNIVERSITY OF RIO GRANDE DO SUL.

Searches in nanotechnology allied to studies of biopolymers advances for application in the medical / pharmaceutical field. Micro / nanoparticles (NP) with biodegradable polymer systems are promising for the controlled release of drugs in the form of nanocapsules (NC) or nanospheres (NS), able to protect / release the substance gradually. This work aims to prepare NP polyurethane ( $M_w = 224,973$  g/mol and  $M_n = 134\ 670$  g / mol) for the encapsulation by multiple emulsion of the pharmaco  $\alpha$ -tocopherol ( $\alpha$ -TOC) with and without açai oil and different stirring techniques (ultra-turrax (TR) and ultrasound (SM)), as well as the study of controlled release in physiological medium. The average sizes of the obtained NP were between 600 nm and 10  $\mu$ m using the SM and between 2-15  $\mu$ m using the TR and all presented spherical morphology and variables distributions depending on the presence or absence of açai oil. It was also possible to detect the presence of  $\alpha$ -TOC and açai oil (when present) in all NP's, as well as the degradation of PU and release of  $\alpha$ -TOC through the techniques of UV-Vis, IR and TGA. The encapsulation efficiency of  $\alpha$ -TOC was moderate, ranging between 15-34% for NPs obtained by TR and between 18-44% for NPs obtained by SM, due to the affinity of the hydrophobic compound with the PU. The amount of  $\alpha$ -TOC initially added in the formulations obtained high rates of recovery ranging from 93-96%. The NPs showed a mass loss of less than 4% when exposed to hydrolytic degradation up to 30 days. The ultra-turrax samples without açai oil and ultrasound with açai oil showed increased release of  $\alpha$ -TOC from the 12<sup>th</sup> day, whereas NP's ultra-turrax with açai oil and ultrasound without açai oil showed constant release up to day 30. The results indicate that the presence of oil using the MS showed more efficiency in the formation of NPs.

Key-words: nanoparticles, polyurethane,  $\alpha$ -tocopherol, açai oil.

## 1. INTRODUÇÃO

Muitos estudos na área de biomateriais têm mostrado que nanopartículas poliméricas são sistemas adequados no uso de liberação controlada de fármacos, drogas ou substâncias ativas para inúmeras aplicações na medicina como na terapia do câncer (Liechty et al., 2012), em vacinas (Jain et al., 2009), em contraceptivos (Sun et al. 2008), em liberação de antibióticos (Alphandary et al., 2000) e compostos com características nutricionais (substâncias nutracêuticas) (Braithwaite et al., 2014), entre outras.

O grande desafio é sintetizar nanopartículas combinando as propriedades físicas e mecânicas dos polímeros com as propriedades hidrofílicas e lipofílicas das substâncias que serão liberadas controladamente (Mohanraj et al., 2006).

As nanopartículas são divididas em nanocápsulas e nanoesferas, esses dois grupos diferem entre si pela presença ou ausência de óleo e pelas suas composições (Schaffazick et al., 2003). As nanocápsulas possuem uma parede polimérica envolvendo um núcleo (oleoso) e as nanoesferas são constituídas por uma matriz polimérica (Rao et al., 2011).

As nanopartículas são interessantes como sistemas de liberação, pois a substância a ser liberada não está em contato direto com os tecidos e, portanto a irritação no local de administração será reduzida. Da mesma forma, a substância é protegida contra a degradação direta tanto durante o armazenamento quanto após a administração (Mohanraj et al., 2006). Esta característica é de grande interesse para o encapsulamento de vitaminas, como a vitamina E na forma de  $\alpha$ -tocoferol.



A vitamina E possui quatro isômeros de tocoferóis diferentes representados pelas letras gregas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ , entre estes isômeros o  $\alpha$ -TOC apresenta maior bioatividade e biodisponibilidade (Hatanaka et al., 2010), é amplamente utilizada em vários segmentos desde antioxidantes de alimentos até a área de cosméticos (Zaragoza et al., 2013; Hatanaka et al., 2010). O  $\alpha$ -TOC é uma substância nutracêutica com um forte caráter antioxidante, possui sensibilidade à luz e ao calor e é um medicamento lipofílico podendo ser solubilizado em núcleo oleoso para liberação controlada (Khayata et al., 2012).

Um exemplo de liberação controlada foi descrito por de Byun et al. (2011) e Noronha et al., (2013) onde produziram partículas com o polímero policaprolactona (PCL) para encapsular  $\alpha$ -TOC, através do método de nanoprecipitação e evaporação de solvente, a eficiência de encapsulamento foi satisfatória (> 50% e >75% respectivamente) e tamanhos da partículas apresentaram-se na faixa nanométrica.

Dentro deste contexto, este trabalho apresenta a preparação e estudo de liberação controlada de micro/nanocápsulas de poliuretano comparando as técnicas de ultra-turrax e ultrassom, onde o  $\alpha$ -TOC será encapsulado em presença ou não de núcleo oleoso utilizando como veículo oleoso o óleo de açaí, uma substância originária da biodiversidade brasileira e com características também nutracêuticas.

## 2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de micro/nanocápsulas de poliuretano biodegradável com  $\alpha$ - tocoferol ( $\alpha$ -TOC) e o estudo de liberação controlada em meio fisiológico.

### 2.1. Objetivos Específicos

- Preparar micro/nanocápsulas de poliuretano e vitamina E (na forma de  $\alpha$ -TOC) com e sem núcleo oleoso de óleo de açaí utilizando a técnica de emulsão múltipla e evaporação do solvente;
- Avaliar duas técnicas de agitação para formação da emulsão, o Ultrassom (SM) e o Ultra-turrax (TR);
- Avaliar as propriedades térmicas e morfológicas das nanocápsulas obtidas;
- Comparar as técnicas de UV-Vis (espectroscopia no ultravioleta visível) e CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) quanto à quantificação de eficiência de encapsulamento e liberação da vitamina E;
- Avaliar a eficiência de encapsulamento da vitamina E no sistema PU/óleo de açaí;
- Avaliar a liberação controlada da vitamina E em meio tamponado que simula o meio fisiológico.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Biomateriais Poliméricos

Biomateriais, segundo *Consensus Conference of the European Society for Biomaterials*, é definido como todo material fabricado não vivo utilizado em dispositivos médicos para a interação com o sistema biológico (Williams, 1987).

O termo biomateriais também é utilizado para descrever materiais derivados de fontes biológicas ou materiais utilizados para tratamento de qualquer tecido, órgão ou função do corpo humano (Vert, 2007; Jaffe et al., 2003; Griffith, 2000).

O desenvolvimento de biomateriais poliméricos é de extrema importância no avanço da ciência, para aplicações médicas e farmacêuticas, pois estes materiais apresentam características adequadas, principalmente na liberação controlada de substâncias ativas e outras substâncias ativas, tais como, biocompatibilidade, biodegradabilidade, resistência ao ataque químico, baixo peso molecular e baixo custo (Lorenzetti, 2006). Dependendo da aplicação os polímeros devem ter propriedades físicas, químicas, biológicas e de degradação específicas para efetivar a ação do medicamento (Nair et al., 2007).

No caso dos biomateriais poliméricos para aplicação na área médica ou farmacêutica é necessário que o polímero apresente propriedades físicas e mecânicas apropriadas e deve ser biocompatível. A biocompatibilidade pressupõe que a aplicação do material polimérico não cause reações adversas, tóxicas ou carcinogênicas (Borelli et al., 2010; Lorenzetti, 2006).

A biodegradabilidade também é uma propriedade importante nos biopolímeros, pois suas moléculas se decompõem gradativamente na presença de água ou

enzimas. Quando estes polímeros são combinados com fármacos e implantados no corpo humano, o polímero dissolve-se lentamente e a droga é liberada gradualmente no ambiente local, este processo continua até que o polímero complete o processo de degradação sem necessidade de intervenção cirúrgica (Halliday et al., 2012).

### **3.2. Poliuretano**

O poliuretano (PU) é um polímero amplamente utilizado nas mais diversas áreas do mercado, tais como: espumas, adesivos, fibras, cosméticos e medicamentos (Chattopadhyay et al., 2007).

Em função das interessantes propriedades físicas e mecânicas obtidos através de modificações na síntese, verificou-se que os poliuretanos também possuem propriedades de biocompatibilidade eficazes se enquadrando na aplicação como biomaterial (Bouchemal et al., 2004).

Os poliuretanos são sintetizados basicamente através de três componentes: diisocianatos (alifáticos ou aromáticos), polióis (dióis ou trióis, do tipo poliéter ou poliéster) e os extensores de cadeia (dióis ou diaminas). De um modo geral, os diisocianatos aromáticos são mais reativos do que os alifáticos, dessa forma os materiais produzidos a partir destes diferentes isocianatos apresentam propriedades diferentes (Cherng et al., 2013). Além disso, a estrutura dos diisocianatos e polióis, bem como a estrutura dos extensores de cadeia desempenham um papel fundamental nas propriedades finais dos polímeros (Ibarboure et al., 2009).

O tipo de poliól tem grande influência nas propriedades físico-químicas e mecânicas do PU formado, influenciando propriedades como flexibilidade e características de processamento, como por exemplo, os PU's à base de poliéster são mais sensíveis para a clivagem hidrolítica do que os baseados em poliéter. Para o PU ser biodegradável, normalmente o poliól utilizado na síntese é um poliéster (Bouchemal et al., 2004).

A obtenção dos PU's se dá a partir da reação de policondensação dos diisocianatos e polióis, o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila, é transferido para o átomo de nitrogênio do isocianato formando o grupo uretano (Howard, 2002).

Conforme mostra a Figura 3.1 a cadeia do poliuretano é formada pela sequência das unidades uretânicas de segmentos flexíveis (polióis) e segmentos rígidos (diisocianato) (Chattopadhyay et al, 2009; Cabral, 2012).

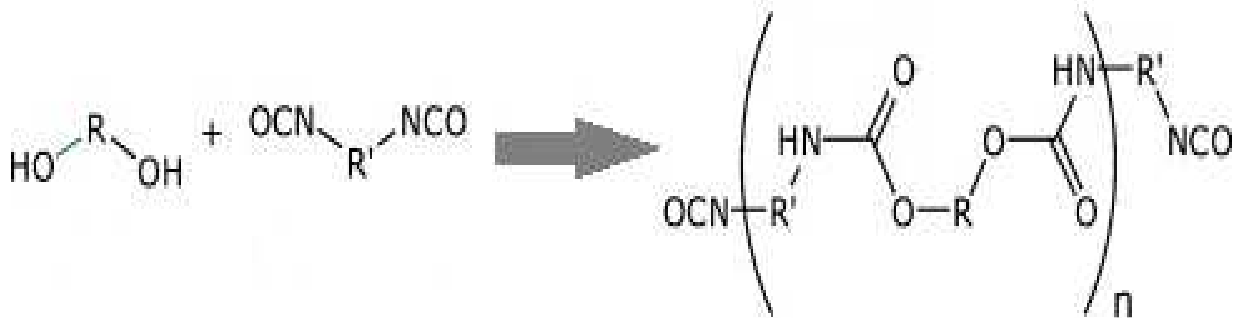


Figura 3.1. Esquema de reação para formação de poliuretano (Chattopadhyay et al, 2009).

Existem na literatura várias pesquisas de sucesso quanto às propriedades e biocompatibilidade dos PU's, tais como: o desenvolvimento de suportes de poliuretanos a partir de PCL (poli ( $\epsilon$ -caprolactona)) aplicados à engenharia de tecido ósseo e que mostrou boa biocompatibilidade (Bonzani et al., 2007).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa realizou estudos *in vitro* (avaliação da citotoxicidade e ensaios de bioestabilidade) de biopoliuretanos obtidos a partir de diferentes misturas de diisocianatos e policaprolactona diol, onde apresentaram bons resultados, pois os PU's testados não apresentaram toxicidade e as propriedades mecânicas foram similares ou superiores a de materiais comerciais, como o Dacron e PTFE utilizados em próteses cardíacas (Cabral, 2012).

Biopolímeros de PU's têm sido desenvolvidos como matrizes para aprimorar a liberação controlada de fármaco, onde vários fatores que relacionam o PU e o fármaco podem favorecer este processo de liberação, os principais são: estímulos como o pH (Zhou et al., 2012) e a temperatura (Chen et al., 2011 e Sun et al., 2011),

propriedade de inchamento do polímero e interações intermoleculares entre o polímero e o fármaco (Cherng, 2013).

Com considerável biocompatibilidade, baixa citotoxicidade e boas propriedades mecânicas, os PU's apresentam um potencial para superar os desafios biológicos e uma grande promessa como dispositivos eficazes para administração terapêutica.

Pesquisas com poliuretano para liberação controlada de substâncias ativas têm sido descritas recentemente, como o trabalho de Gaudin e colaboradores (2008) que sintetizaram nanocápsulas de poliuretano biocompatível para encapsular o fármaco ibuprofeno por miniemulsão de polimerização interfacial com agitação de sonificação, onde verificaram que com a duração de 5 minutos de sonificação obtêm-se o melhor resultado com tamanhos das gotículas de emulsão em cerca de 160nm o que sugere que o excesso de energia foi dissipado sob a forma de calor, sendo esse o tempo utilizado no trabalho descrito nessa dissertação para a preparação de partículas. Ainda, neste estudo o meio oleoso utilizado foi Migliol 812, um óleo triglicérido, o que mostrou boa interação com poliuretano produzindo partículas em torno de 170 e 190nm.

Em outro trabalho feito por Huynh et al. 2010, foi desenvolvido sistemas de liberação controlada (filmes e membranas com partículas) à base de poliuretano biodegradável para a entrega de diacetato de clorexidina obtidas pela técnica de *casting* (consiste em preparar um filme polimérico sobre uma superfície lisa e evaporar o solvente em condições ambiente). Os resultados deste estudo mostraram que o polímero poliuretano possui propriedades e características consideráveis e favoráveis para aplicação controlada de substâncias ativas em suas mais variadas formas (filmes, membranas e partículas).

### **3.3. Micro e Nanopartículas**

Com os avanços da engenharia dos materiais e da nanotecnologia, o estudo das micro/nanopartículas poliméricas tem despertado grande interesse científico e tecnológico, devido a sua principal propriedade de transporte e liberação de

substâncias ativas com aplicações eficazes nos campos da medicina e da farmácia (Rao et al., 2011; Huertas et al., 2010).

Inicialmente surgiu conceito de microcápsulas e nanocápsulas da idealização do modelo celular onde a membrana que envolve e protege o citoplasma e os demais componentes exerce ao mesmo tempo diversas funções como controlar a entrada e saída de material na célula. De modo semelhante, as microcápsulas e nanocápsulas consistem em uma camada de polímero que atua como um filme protetor, isolando a substância ativa (oleoso, aquoso ou sólido) evitando os efeitos de sua exposição inadequada (Cabral, 2004).

As micro e nanopartículas são definidas como partículas sólidas formadoras de um sistema de transporte e liberação controlada de substâncias ativas, incluindo micro e nanoesferas e micro e nanocápsulas (Huertas et al., 2010; Schaffazick et al., 2003). As principais características das micro/nanopartículas (Reis et al., 2006) que as tornam um diferencial quando comparado a outros sistemas de liberação de substâncias ativas são:

- O diâmetro em escala nanométrica ( $< 0,2 \mu\text{m}$ ) e micrométrica (ente  $0,2-5000 \mu\text{m}$ ), o que facilita na interação celular para entrega de substâncias ativas;
- A sua biocompatibilidade, pois podem ser sintetizadas a partir de materiais biocompatíveis ou biodegradáveis;
- E a eficiência de encapsulamento.

As micro/nanocápsulas e micro/nanoesferas diferem entre si pela presença de óleo em suas composições e suas organizações estruturais (Schaffazick et al., 2003), representados na Figura 3.2. As micro/nanocápsulas são denominadas como sistemas vesiculares constituídas por um núcleo oleoso envolto por uma membrana polimérica. O fármaco pode estar presente no núcleo ou adsorvido na superfície da cápsula, enquanto que as micro/nanoesferas possuem uma estrutura do tipo matriz

onde o fármaco pode ser adsorvido na superfície da esfera ou retido na matriz polimérica (Reis et al., 2006; Huertas et al., 2010; Rao et al., 2011).

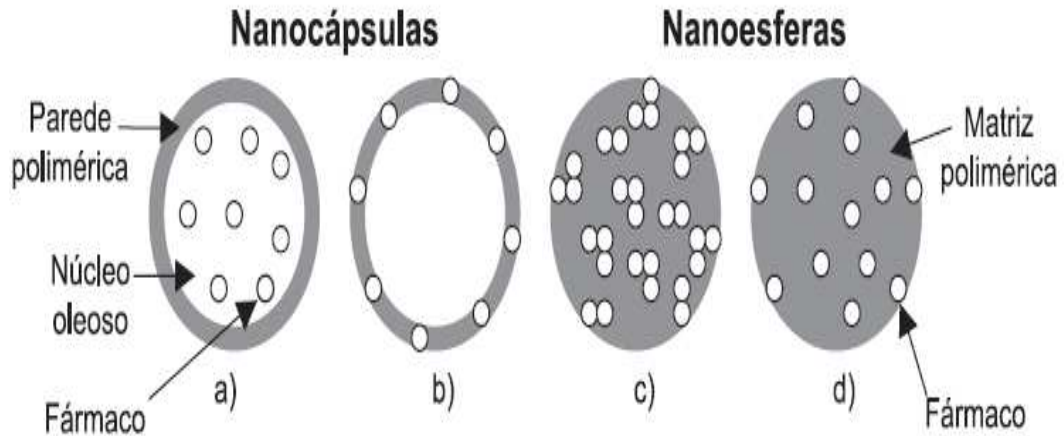


Figura 3.2. Esquema das nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido à parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas (Schaffazick et al., 2003).

No caso das micro/nanocápsulas a cavidade pode conter a substância ativa sob a forma líquida ou sólida como uma dispersão/emulsão molecular (Radtchenko et al., 2002). Esta cavidade serve como reservatório e tem caráter lipofílico ou hidrofílico, de acordo com o caráter de solubilidade do fármaco e com o método de preparação (Huertas et al., 2010).

A eficiência de encapsulamento é uma propriedade importante das micro/nanocápsulas, porém depende das características do polímero a ser utilizado como membrana. Bouchemal et al. (2004), realizaram ensaios para encapsular o  $\alpha$ -TOC com poliuretano e poli (éter) uretano e perceberam que quanto maior o comprimento da cadeia de poliálcool maior será o encapsulamento (80 a 93%) atribuindo a propriedade de rendimento de encapsulamento das micro/nanopartículas como uma medida indireta da permeabilidade da parede da NC e uma estimativa da capacidade do polímero para proteger o conteúdo interno das nanocápsulas.

Outro exemplo de eficiência de encapsulamento é observado no estudo de Noronha et al. (2013), onde produziram partículas com tamanhos entre 184 e 219nm



com PCL amplamente utilizado para encapsular  $\alpha$ -TOC, através do método de nanoprecipitação e evaporação de solvente, obtendo uma eficiência de encapsulamento na faixa de 55 a 75%. O exemplo citado indica que o poliuretano utilizado neste trabalho (derivado de PCL) possui afinidade com  $\alpha$ -TOC.

### 3.4. Métodos de Encapsulamento

Existem vários métodos desenvolvidos para preparação de micro/nanopartículas utilizando monômeros dispersos ou na precipitação de polímeros pré-formados (Figura 3.3), as mais citadas na literatura atualmente são micro/emulsão e polimerização interfacial (Gaudin et al., 2008), emulsificação espontânea (Bouchemal et al., 2004) e emulsão múltipla e evaporação do solvente (Holz, 2012; Xie et al., 2011; Musyanovich et al., 2008).

A escolha do método depende do tipo de aplicação, do material ativo e do mecanismo de liberação da droga (Radtchenko et al., 2002).

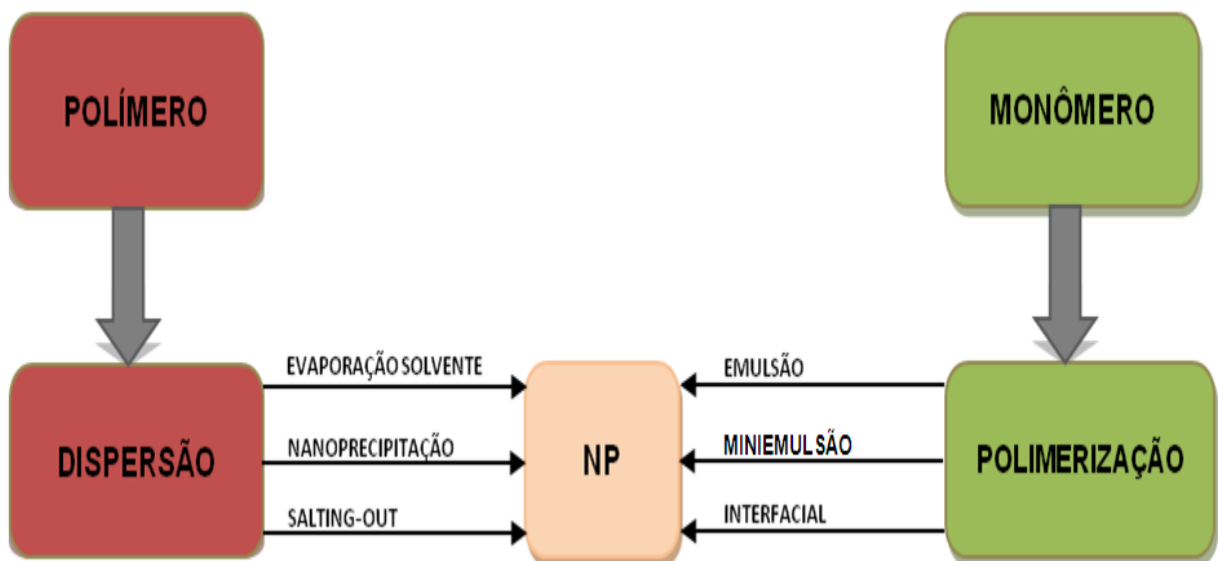


Figura 3.3. Representação esquemática de algumas técnicas de preparação de nanopartículas poliméricas. Fonte: Adaptado de Rao, et al. 2011.

A técnica utilizada nesse trabalho é a formação de emulsão/dispersão do polímero seguida de evaporação de solvente. O procedimento envolve a formação de um sistema de emulsão A/O (fase aquosa/fase oleosa). A fase aquosa consiste na mistura do surfactante com a água e a fase oleosa é composta do polímero

solubilizado em um solvente orgânico, óleo não tóxico e a substância ativa. A mistura das fases (A/O) induz a difusão que resulta na formação de micro/nanocápsulas (Radtchenko et al.,2002; Rao et al., 2011).

A função do surfactante é formar e estabilizar o tamanho das partículas e pode ser adicionado na fase aquosa ou na fase oleosa de acordo com a sua hidrofobicidade (Surassmo et al., 2010). A Figura 3.4 ilustra a técnica de emulsão/evaporação do solvente para a encapsulamento de um composto hidrofóbico.

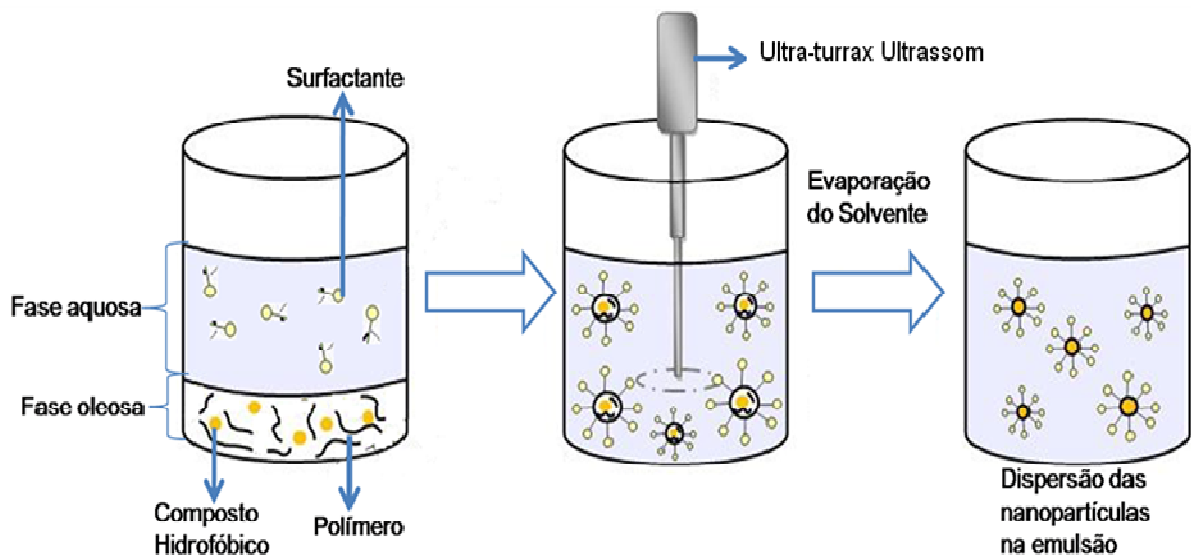


Figura 3.4. Representação esquemática da técnica de emulsão múltipla/evaporação do solvente.

Fonte: Adaptado de Musyanovych, et al. (2008).

Após a mistura das fases e a evaporação do solvente, as micro/nanopartículas formadas podem ser transformadas em micro/nanopartículas sólidas a partir da retirada completa do solvente, como por exemplo, a técnica de liofilização para aumentar a estabilidade físico-química das partículas. A liofilização consiste na remoção da água (em forma de gelo) da mistura através de sublimação (Khayata et al., 2012).

Para exemplo de preparação de micro/nanopartículas por emulsão pode-se citar Holz (2012) que sintetizou micro e nanoesferas de PLGA com mentol através da técnica de múltiplas emulsões com a evaporação lenta do solvente por 12 horas em exaustão o que resultou em micro e nanoesferas com aroma característico do

mentol, o que sugere a eficácia da técnica para formação de micro e nanopartículas, empregada também nesse trabalho.

### **3.4.1. Técnicas de Agitação Ultrassom e Ultra-turrax**

Diversas técnicas de agitação são utilizadas para a preparação de emulsão contendo nanopartículas, as que mais se destacam são as técnicas de ultrassom e ultra-turrax.

O uso do ultra-turrax consiste em cisalhamento da amostra através da alta velocidade de um rotor, sendo que a formação dos tamanhos das gotículas depende da intensidade desse cisalhamento. Segundo a literatura (Asua, 2002) o ultra-turrax não permite obter uma distribuição de tamanhos de gotículas homogêneas geradas, o que resulta em partículas de tamanhos maiores na faixa de micrômetros como mostra o estudo de Ibraheem et al. (2014), descrito abaixo.

Ibraheem et al., (2014) produziu micropartículas a partir de PCL pelo método de dupla emulsão e evaporação de solvente, onde realizou um estudo da influência de diversos parâmetros sobre as propriedades coloidais, sendo os principais o tempo e velocidade de agitação do equipamento ultra-turrax. O tempo que proporcionou o melhor resultado foi 5 min, bem como, a velocidade de agitação de 20.000rpm. A morfologia das micropartículas (Figura 3.5) apresentaram formas esféricas, com superfície lisa e distribuição de tamanho unimodal.

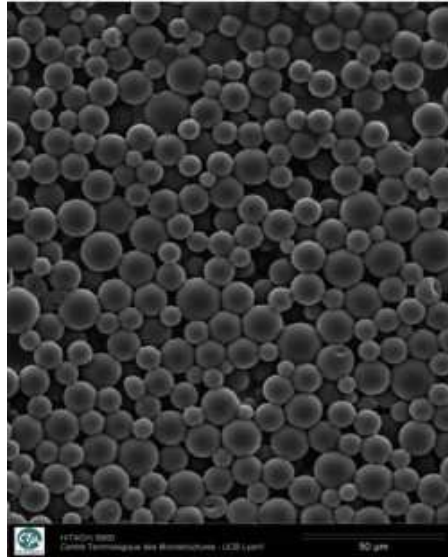


Figura 3.5. Micrografias de micropartículas de PCL obtidas por ultra-turrax. Fonte: Ibraheem et al., 2014.

Já o equipamento de ultrassom baseia-se na aplicação de corrente alternada em um transdutor acoplado ao equipamento produz vibrações (ondas) características com frequências na faixa dos ultrassons (normalmente de 20kHz ou 40kHz), estas ondas são transferidas para o banho e, conseqüentemente, para tudo que nele estiver contido (Korn et al., 2003). A emulsificação através de ultrassom também é muito eficiente na redução do tamanho das gotas, mas só é adequada para pequenas quantidades.

Um exemplo de utilização de ultrassom é o trabalho de Byun et al. (2011), que utilizaram PCL como veículo encapsulador do  $\alpha$ -TOC, pelo método emulsão múltipla e evaporação de solvente, investigando a influência do tempo de ultrassom na eficiência de encapsulamento e tamanho das nanocápsulas (Figura 3.6). A eficiência, segundo os autores, diminuiu com o aumento do tempo e o tamanho médio das nanopartículas apresentaram menores valores com o aumento de tempo no ultrassom, o que revela que a utilização do ultrassom é viável para nanopartículas preparadas pelo método de emulsão múltipla e evaporação de solvente.

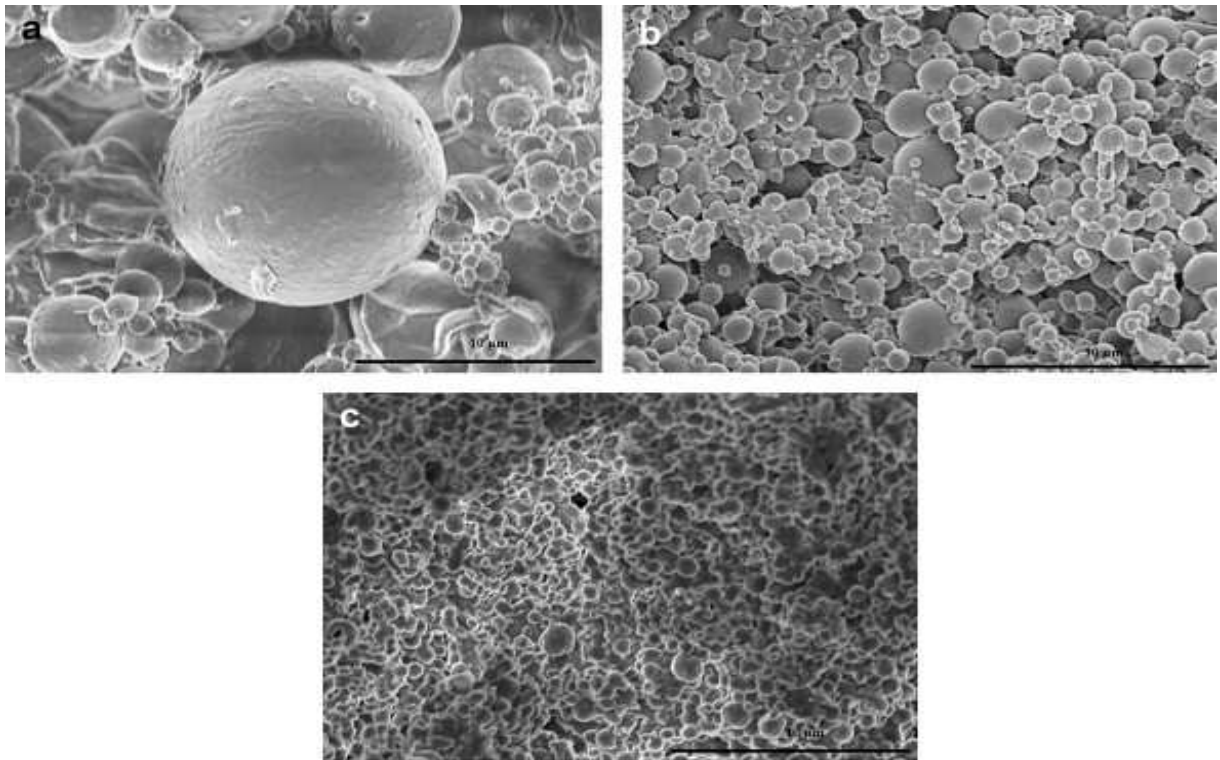


Figura 3.6. Micrografias de nanopartículas com  $\alpha$ -TOC obtidas por ultrassom, a) 1min de agitação, b) 2min agitação, c) 3min agitação. Fonte: Byun et al., 2011.

### 3.5. Meio Oleoso - Óleo Açaí

As nanopartículas devem ser preparadas com base numa razão princípio ativo/polímero adequada para a obtenção de uma eficiência de encapsulamento elevada e toxicidade reduzida. Os óleos, no caso de nanocápsulas, servem como veículo, constituindo o núcleo oleoso onde o fármaco se encontra disperso ou dissolvido. Como regra geral, a escolha de um método de preparação é determinada pelas características de solubilidade do princípio ativo (Souto et al., 2012). Dessa forma é possível ressaltar a importância da escolha do meio oleoso compatível com o composto ativo, de forma que possa ser inerte ou atribuir melhores propriedades ao fármaco, como por exemplo, o óleo de açaí.

Fruta tipicamente brasileira encontrada na bacia amazônica, o açaí da espécie vegetal palmeira *Euterpe oleracea Martius* (Figura 3.7) é desde a antiguidade explorada tanto como alimento quanto como planta medicinal (Kang et al., 2012).

Atualmente o extrato e óleo puro de açaí (Figura 3.7) tem apresentado excelentes resultados para tratamento de complicações da pele (Machado, 2010), de distúrbios digestivos e infecções (Heinrich et al., 2011).



Figura 3.7. Fruta açaí e óleo açaí extraído. Fonte: Beraca, 2012.

Conforme mostra a Tabela 3.1 o óleo de açaí extraído da polpa é rico em ácidos graxos poliinsaturado (ácido oléico conhecido como Omega-9) e monoinsaturado (ácido linoléico, conhecido como Omega-6), tocoferóis, antocianinas e vitamina C, por isso esta substância é considerada nutracêutica (Machado, 2010; Beraca, 2012).

Tabela 3.1. Composição de ácidos graxos e tocoferóis (antioxidantes) do óleo de açaí.

Composição	Euterpe oleracea
<b>Ácidos Graxos (% totais)</b>	
Palmítico	22
Estearico	2
Araquídico	2,5
Oléico	60
Linoléico	12
Linolênico	traços
<b>Tocoferóis (% totais)</b>	
$\alpha$ -Tocoferol 100%*	67
$\beta$ -Tocoferol 30%*	15
$\gamma$ -Tocoferol 15%*	1,3

\*poder antioxidante. Fonte: adaptado de Machado, 2010

O açaí contém quantidades significativas de uma classe de flavonóides, as antocianinas, responsáveis pelo pigmento roxo e pela propriedade antioxidante e antirradical livre do fruto que podem reduzir o risco de doenças cardiovasculares e cânceres (Heinrich et al., 2011). Dentre os óleos que possuem antocianinas derivados de frutas, o açaí tem 10x mais antioxidantes do que as uvas vermelhas (Beraca, 2012).

Considerando as importantes propriedades citadas do óleo de açaí vale ressaltar que o seu uso está próprio para a síntese de nanopartículas transportadora de fármacos.

O estudo realizado por Velho (2011) mostrou a influencia do meio oleoso na produção de nanocápsulas de poliuretano comparando os óleos Miglyol 812<sup>®</sup> (DPAU) e óleo de açaí (DMPU). Os resultados indicaram que a natureza do óleo não interferiu significativamente na massa molar, na viscosidade e no teor de sólidos, conforme se pode observar na Tabela 3.2.

Tabela 3.2. Influência da natureza do óleo comparando miglyol 812 e óleo de açaí (Fonte: Velho, 2011).

<b>Amostras</b>	<b>DMPU 4</b>	<b>DAPU 1</b>
<b>Natureza do óleo</b>	miglyol	açaí
<b>TP (nm)</b>	185	246
<b>Span</b>	3,00	2,55
<b>Mn (g/mol)</b>	19164	16383
<b>Mw (g/mol)</b>	34026	26371
<b>IP</b>	1,78	1,61
<b>Viscosidade (mPa.s)</b>	4	6
<b>Teor de sólidos (%)</b>	22,4	26,1

DMPU 4: PCL (MM=2000g/mol), 10% miglyol 812, 10% LESS e 5% DMPA.  
 DAPU 1: PCL (MM=2000g/mol), 10% óleo de açaí, 10% LESS, 5% DMPA.  
 IP= Mw/Mn; Span=(x90-x10)/x50. Fonte: Velho,2011.

Com relação ao efeito do meio oleoso no tamanho de partícula, pode-se observar na Tabela 3.2 um pequeno aumento de tamanho de partícula (TP) na dispersão contendo o óleo de açaí. Entretanto, verificou-se pelas imagens MET (Microscopia Eletrônica de Transmissão) apresentadas na Figura 3.8, um tamanho

de partícula maior para a dispersão contendo o óleo miglyol 812 e com uma distribuição mais heterogênea.

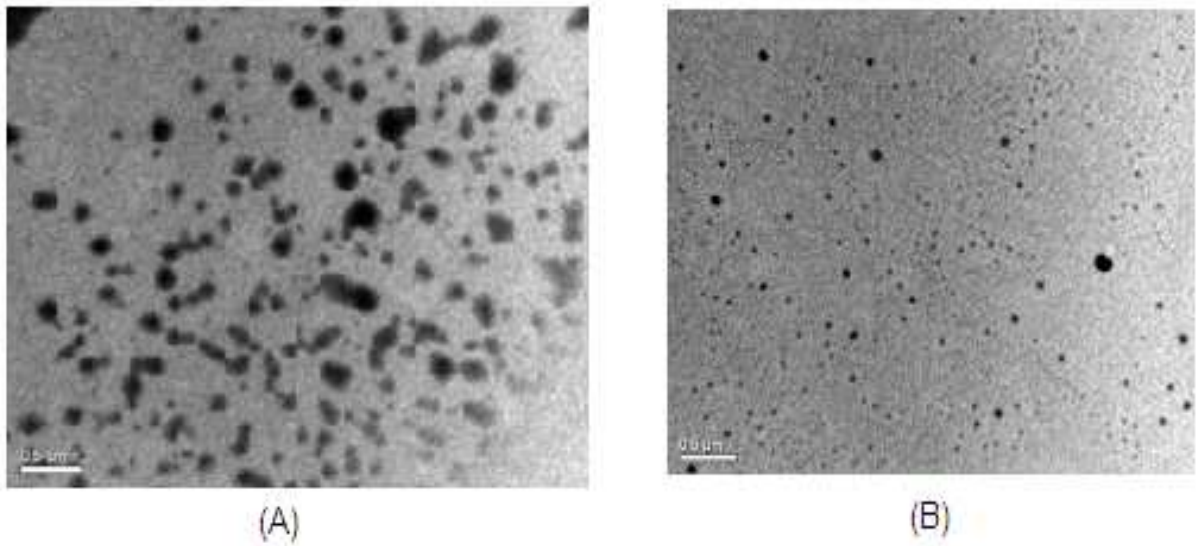


Figura 3.8. Micrografias das dispersões (A) com óleo Miglyol 812, escala 0,5  $\mu\text{m}$  e (B) com óleo de açai, escala 0,5  $\mu\text{m}$ . Fonte: Velho, 2011.

### 3.6. Substância Ativa – $\alpha$ -Tocoferol

O  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -TOC), estrutura química representada na Figura 3.9, é uma das formas mais abundantes na natureza dentre os quatro isômeros tocoferóis da vitamina E ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ), sendo amplamente utilizado como antioxidante em aplicações médicas, tais como tecido epitelial epiderme (Mavon et al., 2004), em células musculares cardiovascular (Saldeen et al., 2005) e em tratamento contra infertilidade (Barbosa, 2009).

A ação antioxidante de alta concentração no  $\alpha$ -TOC evita a oxidação lipídica, ou seja, evita a formação de radicais livres que provoca danos nas estruturas e membranas celulares e proteínas (Byun et al., 2011). Uma molécula de  $\alpha$ -TOC pode “capturar” dois radicais peroxil ( $\text{ROO}\bullet$ ), responsáveis pelo início da oxidação lipídica (Gonnet et al., 2010).



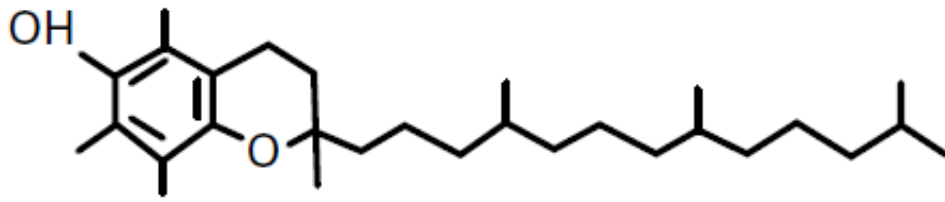


Figura 3.9. Molécula do  $\alpha$ -TOC

O tocoferol reage com os radicais peroxil, impedindo a formação de novos radicais livres e interrompendo a reação em cadeia conforme ilustrado na Figura 3.10. O radical tocoferoxil formado é muito instável e reage novamente com outro radical peroxil.

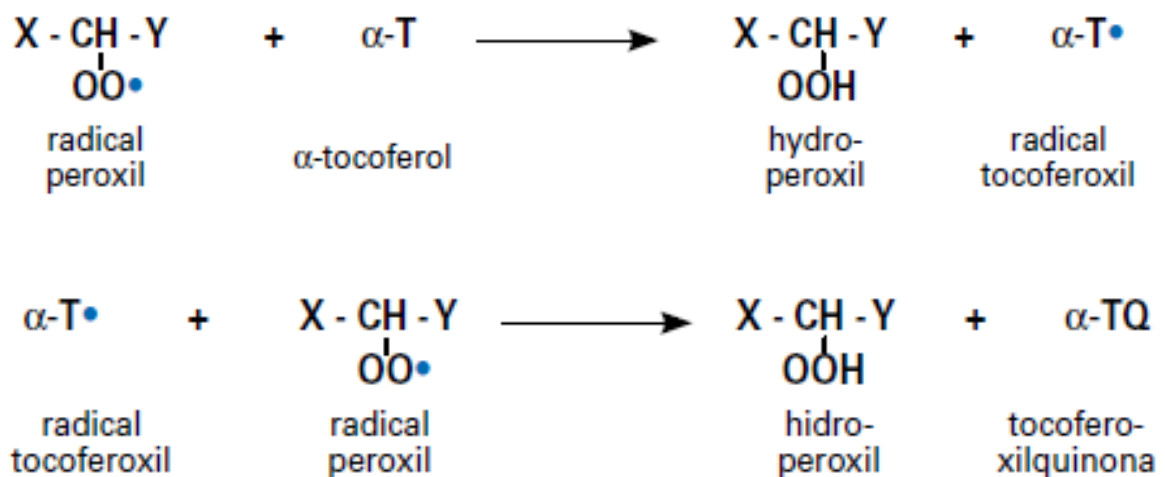


Figura 3.10. Mecanismo da ação do  $\alpha$ -TOC com radicais livres (Djavania, 2011).

A desvantagem do  $\alpha$ -TOC é de ser uma substância lipofílica e possuir alta sensibilidade ao calor e luz, o que limita os meios de manipulação para consumo do fármaco (Hatanaka et al., 2010).

Diversos autores (Kahayata et al., 2012, Byun, et al. 2011 e Bouchemal et al., 2004) mostram que sistemas carreadores capazes de encapsular substâncias ativas como, por exemplo, as nanopartículas (nanocápsulas ou nanoesferas) são ferramentas para proteger moléculas frágeis ou que sofrem degradação facilmente como o  $\alpha$ -TOC (Figura 3.11 e 3.12).

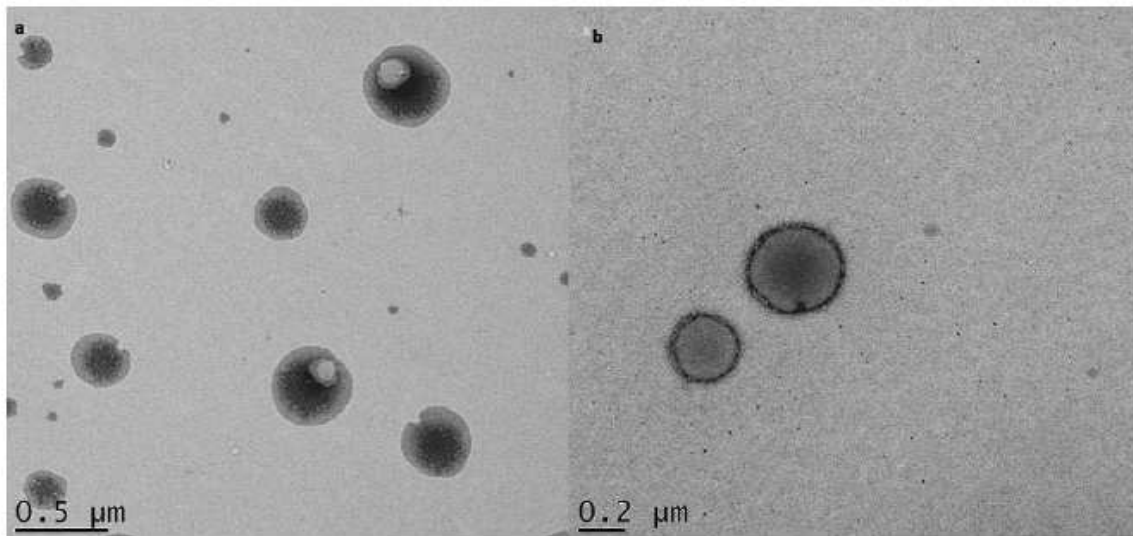


Figura 3.11. Micrografias obtidas por MET de nanocápsulas carregadas com vitamina E obtidas por: (a) escala piloto e (b) escala laboratorial. Fonte: Kahayata et al., 2012.

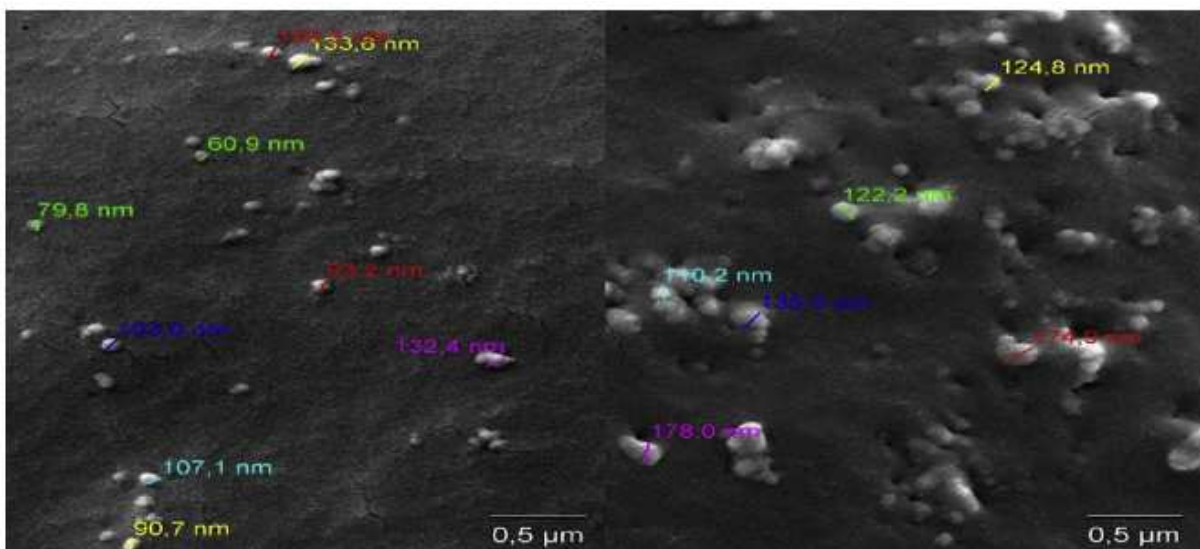


Figura 3.12. Micrografias obtidas por MEV de nanocápsulas carregadas com vitamina E obtidas por: (a) escala laboratorial e (b) escala piloto. Fonte: Kahayata et al., 2012.

Existem diferentes rotas de administração para os sistemas de liberação controlada, entre outros fatores, a escolha da rota de administração dependerá do composto ativo, do sítio de ação desta carga e do tamanho da partícula. Para o  $\alpha$ -tocoferol as rotas de administração geralmente utilizada com nanopartículas são por via tópica e parenteral (Tôrres, 2011; Leite, 2004).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Materiais

O poliuretano ( $M_w= 224.973$  g/mol e  $M_n=134.670$  g/mol) utilizado na preparação das micro/nanopartículas foi sintetizado a partir de uma mistura de HDI e H<sub>12</sub>MDI e policaprolactona diol ( $M_n= 10.000$  g/mol) conforme descrito na literatura (Ligabue et al., 2011). Este polímero já vem sendo estudado pelo grupo para aplicação médica cardiovascular e mostrou-se não tóxico e com bioestabilidade adequada para a regeneração de tecido arterial (Cabral, 2012).

A preparação das micro/nanopartículas foi realizada por meio da técnica de emulsão múltipla e evaporação do solvente.

Uma das maiores dificuldades encontradas na síntese de micro/nanopartículas no processo de emulsão/evaporação é a espuma formada, devido à necessidade de agitação de alta frequência (para um melhor controle de tamanho de partícula), nesse caso foi adicionado um antiespumante específico (antarol KFO™ 205).

Os reagentes e solventes utilizados neste procedimento e nas análises de caracterização estão listados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Quantidade dos reagentes utilizados na preparação das micro/nanopartículas

<b>Produto</b>	<b>Origem</b>	<b>Pureza</b>
Antiespumante (antarol KFO™ 205)	Doação Braschemical	Não informado
Metanol (grau HPLC)	Sigma Aldrich	99,9
Óleo de Açaí	Beraca	Não informado
THF (tetrahidrofurano)	Vetec	99%
Tween 80 (polissorbato 80)	Vetec	70.0 %
SDS (Dodecil Sulfato de Sódio)	Sigma Aldrich	92%
$\alpha$ -Tocoferol	Sigma	96,0%
$\alpha$ -Tocoferol (padrão HPLC)	Supelco	99%

#### 4.2. Estudo preliminar da preparação das Micro/nanopartículas

A escolha do método para preparação das micro/nanopartículas por emulsão múltipla foi baseada em estudos descritos na literatura com o PU que resultaram na formação de partículas esféricas (Holz, 2012; Khayata et al. 2012).

Para a identificação do melhor surfactante na formação de partículas de PU e o melhor tempo de agitação (5 ou 10min) foram realizados ensaios preliminares, para isso foi comparado os surfactantes SDS (iônico) e Tween 80 (não iônico e muito utilizado na indústria farmacêutica) usando agitação por ultra-turrax. Após a definição do melhor surfactante e tempo de agitação foi realizado o ensaio para definir a melhor concentração inicial de PU.

Os melhores resultados obtidos neste estudo preliminar definiram os parâmetros que foram usados na preparação das micro/nanopartículas de PU/ $\alpha$ -tocoferol e são descritas a seguir.

#### 4.3. Preparação das Micro/nanopartículas de PU

As emulsões foram preparadas com métodos operacionais diferentes e com e sem presença de óleo de açaí. As amostras foram identificadas (Quadro 4.1) com TR para as micro/nanocápsulas produzidas com ultra-turrax e SM para as

microcápsulas produzidas com ultra-som e nomeadas C/ÓLEO para identificar a presença de óleo de açaí e S/ÓLEO para as microcápsulas sem óleo de açaí.

Quadro 4.1. Identificação das micro/nanocápsulas conforme o equipamento utilizado e presença de óleo de açaí.

Compostos		Equipamento		Identificação
Óleo de Açaí	$\alpha$ -Tocoferol	Ultra-turrax	Ultrassom	
X	X	X		TR C/ÓLEO
	X	X		TR S/ÓLEO
X	X		X	SM C/ÓLEO
	X		X	SM S/ÓLEO

As micro/nanopartículas de PU/ $\alpha$ -TOC foram preparadas utilizando a técnica de emulsão/dispersão e evaporação de solvente partindo de uma solução (fase O) de poliuretano em THF que continha também o óleo de açaí e  $\alpha$ -TOC, e separadamente outra solução foi preparada com água destilada e o surfactante. O fluxograma (Figura 4.1) apresenta as etapas do procedimento de preparação das nanopartículas.

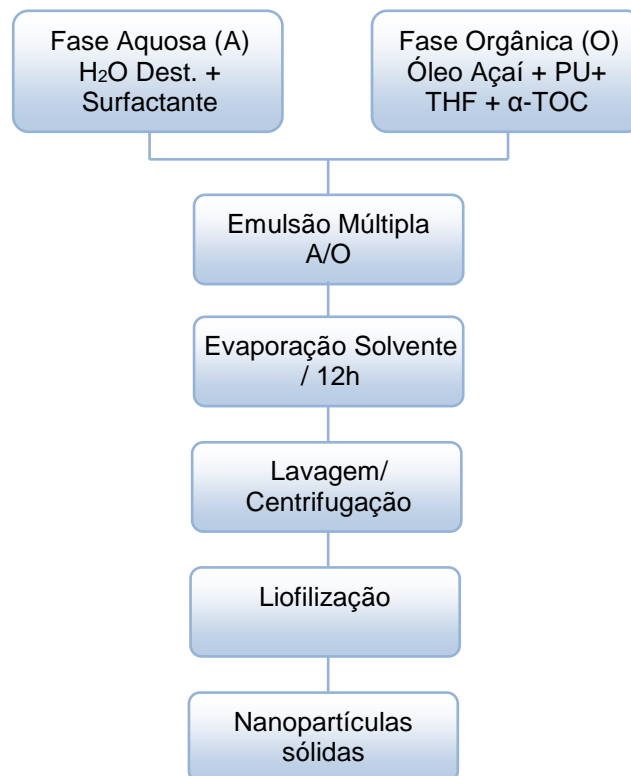


Figura 4.1. Fluxograma etapas síntese NP de poliuretano carregadas de  $\alpha$ -TOC.

Para a preparação da fase aquosa (A) misturou-se água destilada com surfactante Tween 80. A fase oleosa (O) consistiu na mistura do poliuretano solubilizado em THF com óleo de açaí e a  $\alpha$ -TOC. As massas e volumes dos reagentes utilizados estão descritas na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Quantidade dos reagentes utilizados na preparação das micro/nanopartículas

Reagente	m/m (%)
Água destilada	69,71
Antarol	0,04
Óleo de Açaí	0,04
PU	0,39
THF	29,55
Tween 80	0,08
$\alpha$ -Tocoferol	0,19

A fase aquosa foi adicionada na fase oleosa sob agitação de um emulsificador ultra-turrax (Multitec IKA® T25) a 24000rpm por 5 minutos formando a emulsão (A/O) com as micropartículas em suspensão ou por ultrassom 40kHz (ultracleaner 1600A). Devido a alta rotatividade e também por se tratar de uma emulsão a formação de espuma ocorrerá naturalmente, nesse momento é necessário a adição de antiespumante em quantidade adequada.

O solvente foi eliminado pelo método de evaporação lenta (Holz, 2012). A emulsão permanece por 12 horas na capela com exaustão, temperatura ambiente e pressão atmosférica.

Para a remoção de resíduos e excesso de solvente e surfactante (Tween 80), as partículas em emulsão são isoladas por centrifugação e lavadas três vezes com água destilada.

Após a lavagem, as micro/nanopartículas foram congeladas com nitrogênio líquido para serem submetidas ao processo de liofilização, para isso foi utilizado aparelho liofilizador do Laboratório de Análises Bromatológicas FAQUI-PUCRS.

A liofilização consiste basicamente, na remoção da água (sob a forma de gelo) através de sublimação e tem sido empregada para a secagem de suspensões de nanopartículas, neste trabalho a emulsão passou pelo processo de liofilização por 24 horas e logo após são armazenadas em um dessecador. A secagem de emulsão contendo as micro/nanopartículas utilizando liofilização é uma estratégia que resulta no aumento da estabilidade físico-química destes sistemas e a forma seca é mais viável para realizar maiores caracterizações.

#### **4.4. Recuperação e Eficiência de Encapsulamento**

A análise de recuperação e eficiência de encapsulamento consiste na quantificação de  $\alpha$ -TOC ( $\lambda=292\text{nm}$ ) recuperado das micro/nanocápsulas e o teor livre de  $\alpha$ -TOC presente na emulsão conforme descrito na literatura (Noronha et al., 2013, Khayata et al., 2012). Esta quantificação pode ser obtida por meio de duas técnicas distintas (UV-Vis ou CLAE). A técnica de CLAE é amplamente utilizada, porém trata-se de um equipamento e meios analíticos de alto custo, enquanto que a técnica de UV-Vis consiste em um método simples, mas pouco utilizado para quantificação de EE.

##### **4.4.1. Preparação das Amostras para Quantificação em UV-Vis e CLAE**

Para o cálculo de percentual de  $\alpha$ -TOC recuperado das micro/nanopartículas é necessário quantificar o teor total de  $\alpha$ -TOC presente nas micro/nanopartículas, para isso foi dissolvido 1,0mL da emulsão (micro/nanopartículas) em 10,0mL de metanol. Essa solução foi sonicada por 30 minutos de modo a extrair o  $\alpha$ -TOC para o solvente e precipitar o polímero, após foram centrifugadas a 5000rpm durante 30 minutos.

A concentração total de  $\alpha$ -TOC foi determinada no sobrenadante expressa em mg de  $\alpha$ -tocoferol por mL de emulsão. O teor recuperado de  $\alpha$ -TOC (%) foi calculado através da comparação do teor total de  $\alpha$ -TOC com o conteúdo inicial adicionado às formulações, conforme representado Equação 1.

$$\text{Recuperação (\%)} = \left( \frac{\text{Teor } \alpha\text{TOC}_{\text{inicial}} - \text{Teor } \alpha\text{TOC}_{\text{total}}}{\text{Teor } \alpha\text{TOC}_{\text{inicial}}} \right) \times 100 \quad (1)$$

Para o cálculo de eficiência de encapsulamento é necessário quantificar o teor de  $\alpha$ -TOC livre na emulsão, no qual foi avaliado após a centrifugação de uma parte (~40ml) da emulsão inicial a 5000rpm por 30 min seguida de filtração. A eficiência de encapsulamento (EE%) foi determinada como sendo a diferença entre o teor de  $\alpha$ -TOC inicial e do teor de  $\alpha$ -TOC livre na emulsão, de acordo com Khayata et al. 2012, utilizando a Equação 3.

$$\text{Eficiência de encapsulamento (\%)} = \left( \frac{\text{Teor } \alpha\text{TOC}_{\text{inicial}} - \text{Teor } \alpha\text{TOC}_{\text{livre}}}{\text{Teor } \alpha\text{TOC}_{\text{inicial}}} \right) \times 100 \quad (2)$$

A linearidade dos métodos de determinação foram quantificadas através das técnicas de CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) e UV-Vis (espectroscopia de radiação na região do ultravioleta e visível) com soluções-padrão de  $\alpha$ -TOC.

Para a técnica de CLAE foram realizadas injeções de soluções-padrão de  $\alpha$ -TOC (292 nm) de diferentes concentrações. As injeções foram realizadas em triplicata para cada concentração. As curvas de calibração para a área de pico em função da concentração  $\alpha$ -TOC (Figura 5.1) foram lineares na faixa de concentração de 1-50 $\mu$ g/mL. O coeficiente de correlação  $R^2$  foi de 0,992. A equação de regressão da curva de calibração foi de:  $y = 7,582x + 3,524$ .



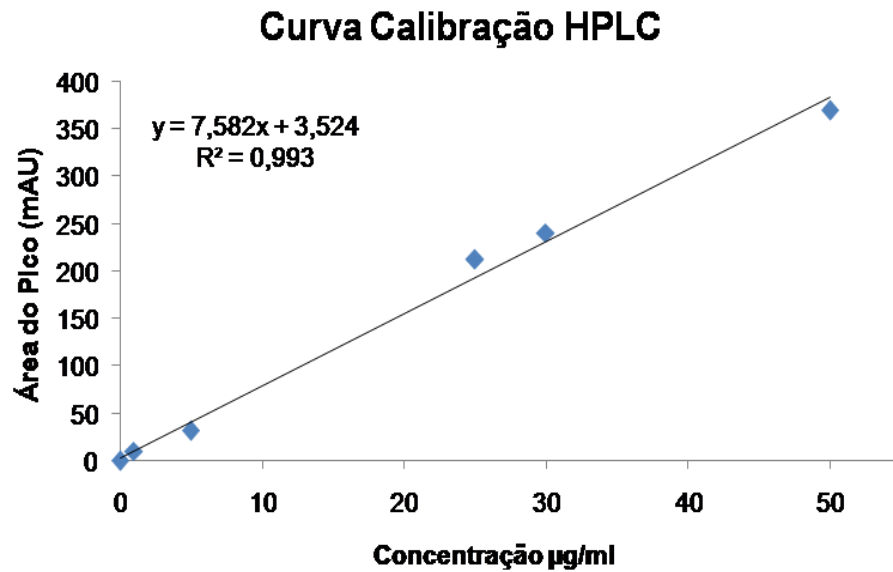


Figura 4.2. Curva de  $\alpha$ -TOC obtida por CLAE e a equação de regressão.

Para a técnica de UV-Vis as medidas foram realizadas pela leitura em cubeta de quartzo no equipamento da solução-padrão de  $\alpha$ -TOC (292 nm) de diferentes concentrações. As leituras foram realizadas em triplicata para cada concentração. As curvas de calibração das absorbâncias (AU) em função da concentração  $\alpha$ -TOC (Figura 5.2) foram lineares na gama de concentração de 1-50µg / mL, com um coeficiente de correlação  $R^2$  de 0,989. A equação de regressão da curva de calibração de foi:  $y = 0,007x + 0,016$ .

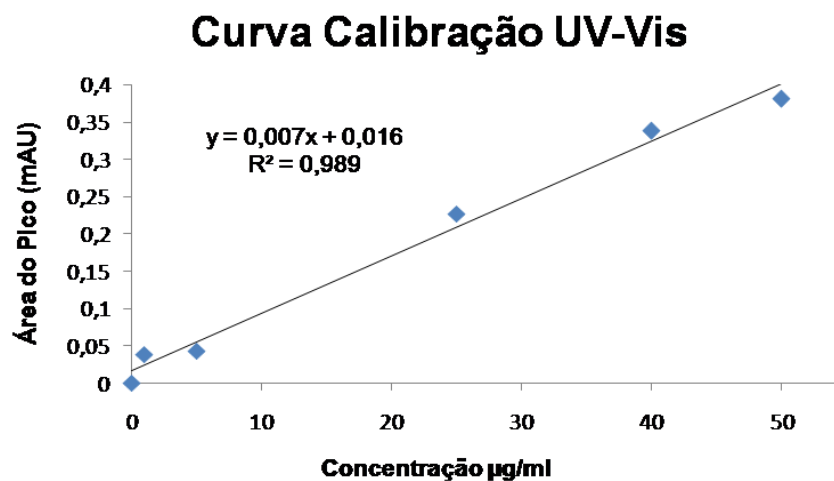


Figura 4.3. Curva de  $\alpha$ -TOC obtida por UV-Visível e a equação de regressão

## **4.5. Técnicas de Caracterização**

### **4.5.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)**

As moléculas (simples ou macromoléculas) são constituídas de átomos que formam uma estrutura molecular tridimensional, sendo esta, responsável por diferentes propriedades moleculares. A espectroscopia de infravermelho emite radiação fazendo surgir um processo de vibração molecular indicando a presença de vários grupos funcionais da estrutura molecular. As micro/nanopartículas de PU/ $\alpha$ -TOC foram caracterizadas segundo sua estrutura química por técnica de infravermelho empregando um espectrômetro Perkin Elmer Instruments Spectrum One FT-IR Spectrometer Hair Sampling Accessory, no intervalo de 4.000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ . Para análise das amostras sólidas foram preparadas pastilhas com KBr. Para a obtenção de filme de PU os mesmos foram solubilizados em THF e depois analisados com o auxílio do acessório para pastilhas.

### **4.5.2. Termogravimetria (TGA)**

As análises termogravimétricas foram feitas para determinar o perfil de decomposição térmica das micro/nanopartículas de PU/ $\alpha$ -TOC, assim como possíveis interações entre substância ativa e matriz polimérica. As curvas termogravimétricas TG/DTG foram obtidas utilizando um equipamento TA Instruments modelo Q600, variando da temperatura ambiente até 600°C, com uma taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de nitrogênio, e porta-amostra de platina.

### **4.5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A MEV foi utilizada para analisar a morfologia e a superfície das amostras das nanopartículas, utilizando um microscópio eletrônico de varredura do instituto tecnológico em ensaios e segurança funcional (ITT Fuse) da Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS – São Leopoldo), marca ZEISS modelo EVO LS15 (no modo elétron secundário) e faixa de aumentos de 1000 a 8000x, tensão de

aceleração de 20 kV, utilizando ouro para metalização das amostras. A distribuição do tamanho de partícula e o tamanho de partícula médio foram obtidos utilizando-se o software Imaje J. para contagem e tamanho de partículas através das imagens de MEV.

#### **4.5.4. Liberação do $\alpha$ -TOC *in vitro***

Os testes da liberação controlada foram realizados através do método de degradação hidrolítica (norma ASTM F1635 (2010)) por um período de 4, 6, 10, 12, 20, 25 e 30 dias. As amostras foram colocadas em tubos de ensaios imersos em solução tampão fosfato salino (PBS, pH= 7,4), à 37°C durante o tempo determinado. Após o período de tempo as amostras foram retiradas do banho e secas a vácuo durante aproximadamente 24 horas. A liberação de  $\alpha$ -TOC foi quantificada pela técnica de UV-Visível e CLAE.

#### **4.5.5. Espectroscopia no Ultravioleta-Visível (UV-Vis)**

A espectroscopia de ultravioleta visível envolve a absorção da radiação UV-Vis, pela amostra após excitação de feixe, causando a promoção de elétrons do estado eletrônico fundamental ao estado excitado. É aplicada para determinações de compostos orgânicos e inorgânicos, como, por exemplo, na identificação do princípio ativo de fármacos. O equipamento de UV-Vis utilizado nesse trabalho foi da marca Agilent Technologies® modelo 8453, empregando o comprimento de onda de 292nm. Foram realizadas leituras, em cubeta de quartzo, das amostras obtidas através do processo descrito no item 5.2.

#### **4.5.6. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

A análise cromatográfica das amostras foi realizada no Instituto de Toxicologia (INTOX) da PUCRS. Os sobrenadantes obtidos através do processo descrito no item 5.2, foram injetados em equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector UV-Visível (Agilent series® 12000, Agilent Technologies Inc.), empregando comprimento de onda de 292nm. Foram utilizadas coluna Lichospher® (Merck) de fase reversa C 18 RP-18 esférica 5 $\mu$ m/125x4,0mm

com pré-coluna Lichospher<sup>®</sup> (Merck) 5 $\mu$ m/4x4mm. A fase móvel composta da mistura de metanol:água (99:1 v/v) a um fluxo de 1,0 mL/min e o volume de injeção foi de 40 $\mu$ L.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Estudo da preparação das Micro/nanopartículas

Diferentes ensaios foram realizados para definir o melhor surfactante para a formação das micro/nanopartículas. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Comparação dos surfactantes Tween e SDS.

Surfactantes	Concentração em relação á fase aquosa	Tempo de agitação (min)	Tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ )
SDS	25%	5	Não formou partículas
	25%	10	Não formou partículas
	10%	5	5,6 a 12,17
	10%	10	10 a 18
Tween 80	25%	5	Não formou partículas
	25%	10	Formou filme com as partículas aderidas
	10%	5	2 a 15
	10%	10	0,835 a 17

Observando os resultados da Tabela 5.1 foi possível notar que o tempo ótimo para agitação foi de 5 minutos para ambos os surfactantes (SDS e Tween 80), mesmo que os valores do tamanho de partículas tenham sido próximos para o Tween 80 em 5 e 10min de agitação a formação do produto final para 10min muito inferior ao rendimento final resultante de 5 minutos. Ainda com os resultados da Tabela 5.1 foi possível definir que o melhor surfactante para a preparação das partículas era o Tween 80, pois apresentou menor tamanho de partícula e uma morfologia mais homogênea conforme observado nas figuras de MEV (Figura 5.1),

este resultado pode indicar que o Tween 80 possui uma melhor afinidade com o PU para formação micelar.

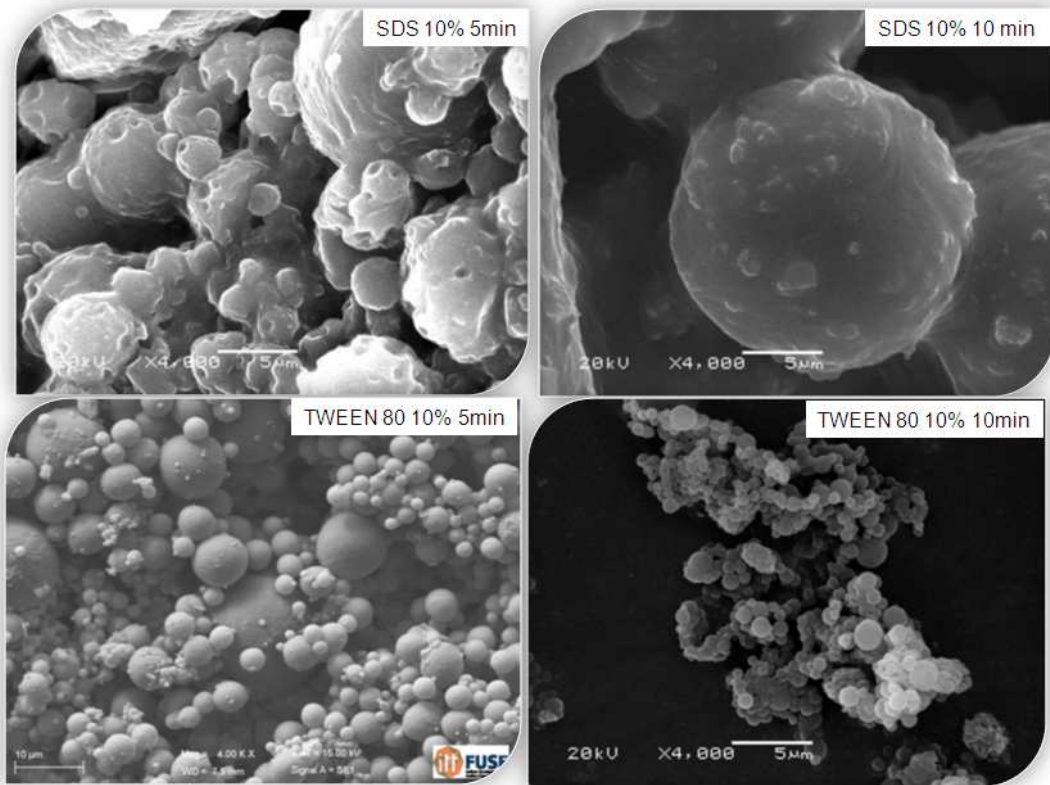


Figura 5.1. Micrografias das micro/nanopartículas formadas por PU/ $\alpha$ -TOC usando diferentes surfactantes (SDS e Tween80) e diferentes tempos de agitação

Quanto ao teor inicial de poliuretano foram realizados ensaios com 0,2 e 0,4% de PU inicial, percebeu-se que o rendimento final em massa e tamanho de partícula foram melhores com o percentual inicial de 0,4% de PU além disso a interação polímero/ óleo/  $\alpha$ -TOC foi mais favorável com 0,4%, conforme observado a maior interação no termograma da Figura 5.2.

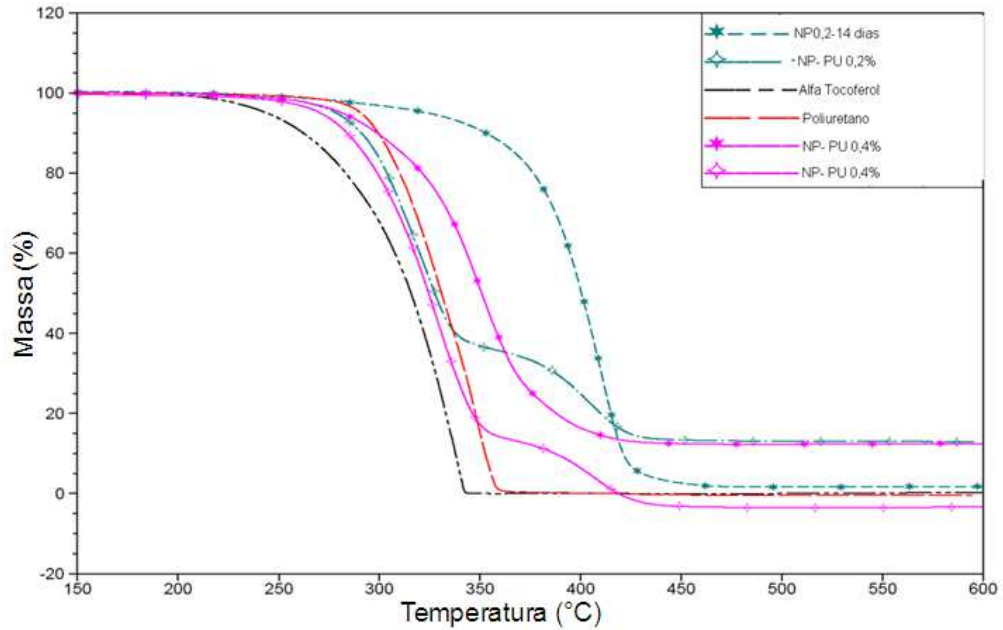


Figura 5.2. Termogramas das micro/nanopartículas formadas por PU/ $\alpha$ -TOC usando diferentes percentuais iniciais de poliuretano.

## 5.2. Recuperação e Eficiência de Encapsulamento

Utilizando as técnicas de UV-Vis e CLAE descritas na metodologia (item 4.3) foram obtidos os valores para a recuperação e eficiência de encapsulamento (EE) apresentados na Tabela 5.2 e Tabela 5.3 respectivamente

Tabela 5.2. Recuperação (%) de  $\alpha$ -TOC.

Amostra	Recuperado (%) UV-Vis	Recuperado (%) CLAE
TR C/ÓLEO	93	93
TR S/ÓLEO	93	93
SM C/ÓLEO	91	92
SM S/ÓLEO	92	96

Os valores percentuais do  $\alpha$ -TOC recuperado referentes ao valor inicial de  $\alpha$ -TOC estão apresentados na Tabela 5.1. Os resultados obtidos estão na faixa de 91 a 96% para as duas técnicas de agitação (SM e TR), sendo excelentes e indicando a afinidade do composto encapsulado e o polímero.

Tabela 5.3. Eficiência de encapsulamento em % de  $\alpha$ -TOC.

<b>Amostra</b>	<b>EE (%) UV-Vis</b>	<b>EE (%) CLAE</b>
<b>TR C/ÓLEO</b>	34	34
<b>TR S/ÓLEO</b>	14	15
<b>SM C/ÓLEO</b>	44	41
<b>SM S/ÓLEO</b>	18	23

Constata-se também, na Tabela 5.2, que as técnicas de UV-Vis e CLAE apresentaram resultados semelhantes para as duas análises, recuperação e eficiência de encapsulamento do  $\alpha$ -TOC.

A EE obtida pelo método UV-Vis, apresentada na Tabela 5.3 está na faixa de 14 a 44%, enquanto que para CLAE a EE está entre 15 a 41%. Estes resultados mostram que a quantificação de  $\alpha$ -TOC encapsulado pode ser obtida com confiabilidade por qualquer uma das técnicas. Baseado nestes resultados, e também pelo fato de não dispormos do equipamento CLAE em todo o período de desenvolvimento deste trabalho, os demais resultados que serão mostrados foram obtidos pela técnica de UV-vis.

Também pode ser observado que a EE foi maior quando utilizado a técnica de ultrassom (EE= 41-44%), em comparação com o ultra-turrax (EE= 34%), como mostrado na Tabela 5.3. A maior eficiência de encapsulamento com SM também foi observada por Byung, et al. (2011) e Khayata, et al. (2012), os quais utilizam PCL para nanoprecipitação com evaporação de solvente para encapsulamento de  $\alpha$ -TOC, obtendo valores de EE entre 50 a 98%. Já Carneiro et al. (2013), utilizando biopolímero a partir de goma arábica para encapsulamento de composto oleoso (óleo de linhaça) e com técnica de emulsão múltipla com agitação através de ultra-turrax apresentou EE em torno de 60% apresentando aumento na EE devido à modificações da preparação das NP.

Estes trabalhos corroboram os resultados obtidos neste estudo, nos quais demonstram que o uso de SM produz maior EE. Dessa forma, é possível afirmar que as micro/nanopartículas com o polímero PU, produzidas através da técnica de



ultrassom têm grande potencial como sistema para liberação controlada de vitamina E.

Segundo Stella et al. (2007) e Ameller et al. (2003), fatores como o método de emulsão, propriedades físico-químicas do composto ativo e a sua polaridade podem influenciar fortemente na eficiência de encapsulamento. Neste estudo, o maior percentual de encapsulamento de  $\alpha$ -TOC foi obtido nas amostras TR C/ÓLEO (%EE= 34%) e SM C/ÓLEO (%EE= 44%) indicando o efeito resultante da elevada lipofilicidade da combinação de óleo de açaí agindo como o núcleo oleoso para o composto  $\alpha$ -TOC.

### **5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura e Distribuição de Tamanho de Partículas**

A Figura 5.3 mostra as micrografias das partículas de PU/ $\alpha$ -TOC (com e sem óleo de açaí) com magnitude de 4000 x, exceto a Figura 5.3d (1000 x). Conforme se pode observar, as micro/nanocápsulas preparadas com ultrassom e ultra-turrax apresentaram como principal morfologia a forma esférica.

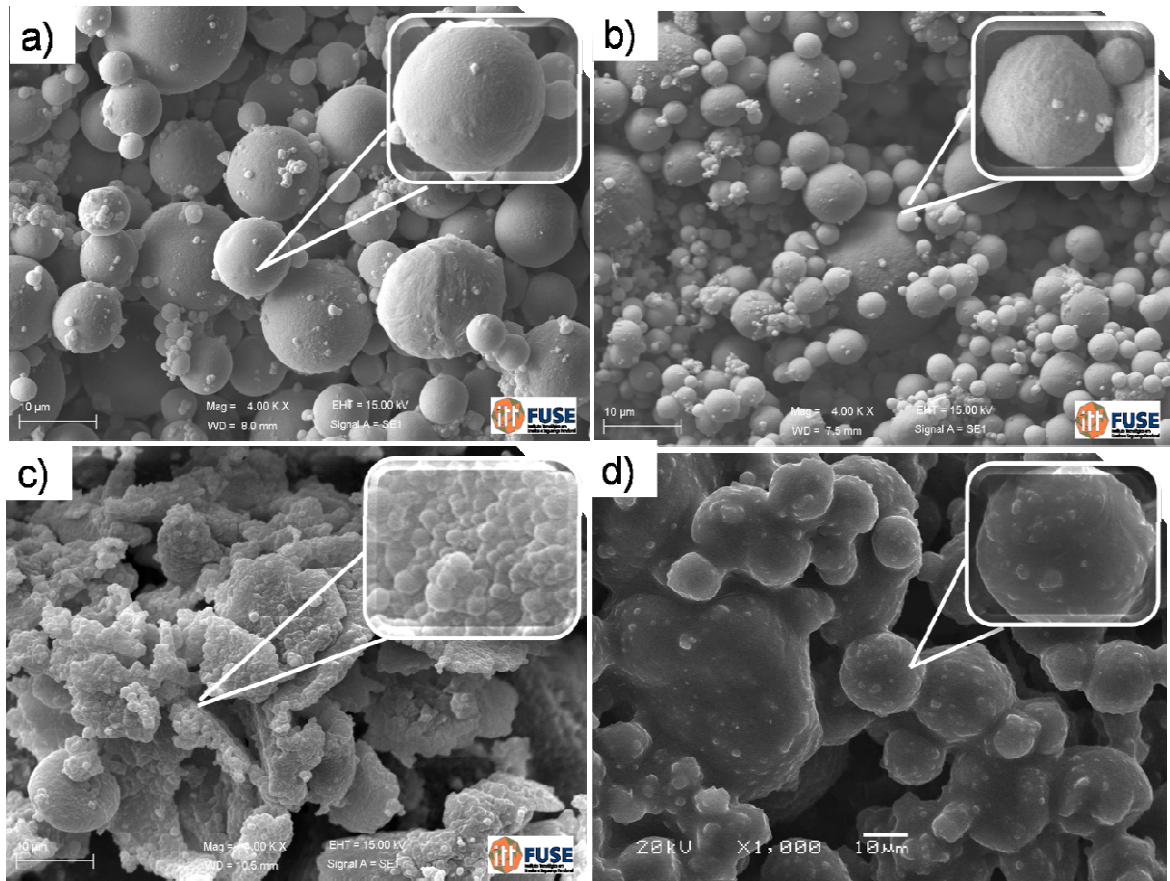


Figura 5.3. Micrografias das micro/nanopartículas de PU/ $\alpha$ -tocoferol: a) SM C/ÓLEO (4000 x) b) TR C/ÓLEO (4000 x), c) SM S/ÓLEO (4000 x), d) TR S/ÓLEO (1000 x).

Também pode ser observado que micro/nanopartículas obtidas com ultrassom (Figura 5.3a e c) apresentaram tamanhos mais uniformes com distribuição mais homogênea quando comparado às micro/nanopartículas obtidas por ultra-turrax (Figura 5.3b e d). Foi observado um grau acentuado de aglomeração e má formação na forma esférica entre partículas com ausência de óleo (Figura 5.3d). A presença de óleo, neste caso, TR C/ÓLEO (Figura 5.3b), propiciou a formação de micro/nanopartículas com morfologia esférica e com certa rugosidade na superfície.

Outra constatação importante observada na Figura 5.3 foi o fato da ausência de óleo de açaí (como meio oleoso) promover a formação de micro/nanopartículas aglomeradas e compactas, em ambas as técnicas (ultra-turrax e ultrassom).

Em relação à distribuição de tamanho (Figura 5.4) das micro/nanopartículas preparadas com ultrassom foi possível verificar que para as micro/nanopartículas SM

C/ÓLEO os tamanhos obtidos foram na faixa de micrometros (1-10 $\mu$ m), enquanto que SM S/ÓLEO resultou em partículas com tamanho micro e nanométrico (0,6 e 1,5 $\mu$ m) e uma distribuição mais estreita e maior homogeneidade quando comparado ao SM C/ÓLEO.

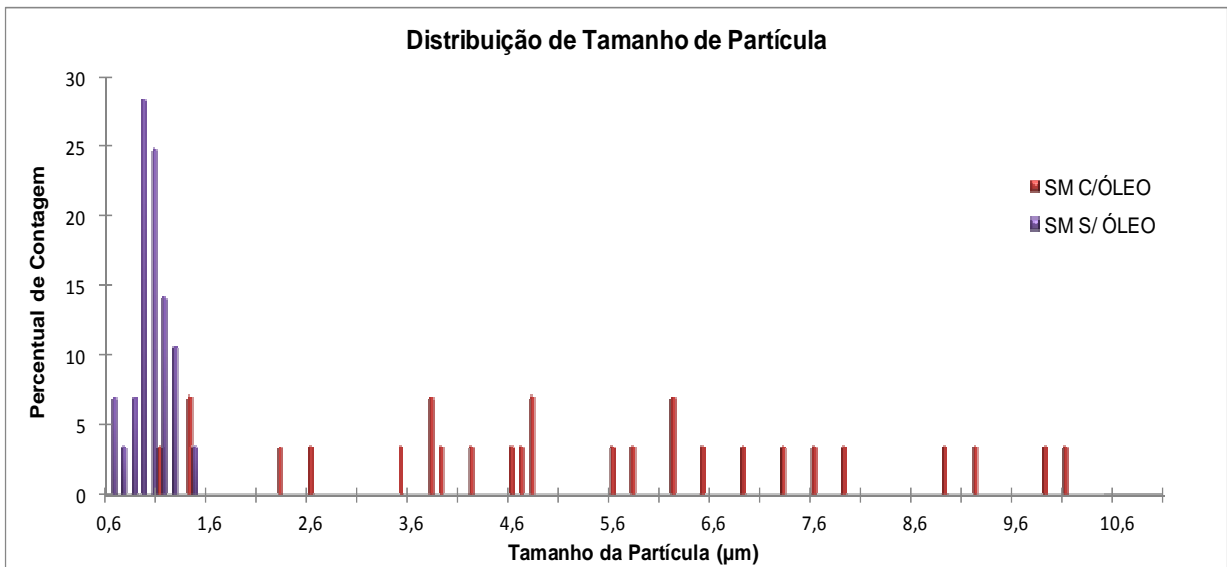


Figura 5.4. Distribuição de tamanho de partículas das amostras SM C/ÓLEO e SM S/ÓLEO.

Todas as micro/nanopartículas obtidas com ultra-turrax (Figura 5.5) apresentaram distribuição de tamanho na escala de micrometros. No entanto é possível notar que quando há presença de óleo de açaí o tamanho das micro/nanopartículas TR C/ÓLEO concentram-se na faixa de 2-6  $\mu$ m indicando maior homogeneidade quando comparado com as micro/nanopartículas TR S/ÓLEO que além de apresentarem faixas mais largas (4-15 $\mu$ m) formam partículas de tamanhos maiores.

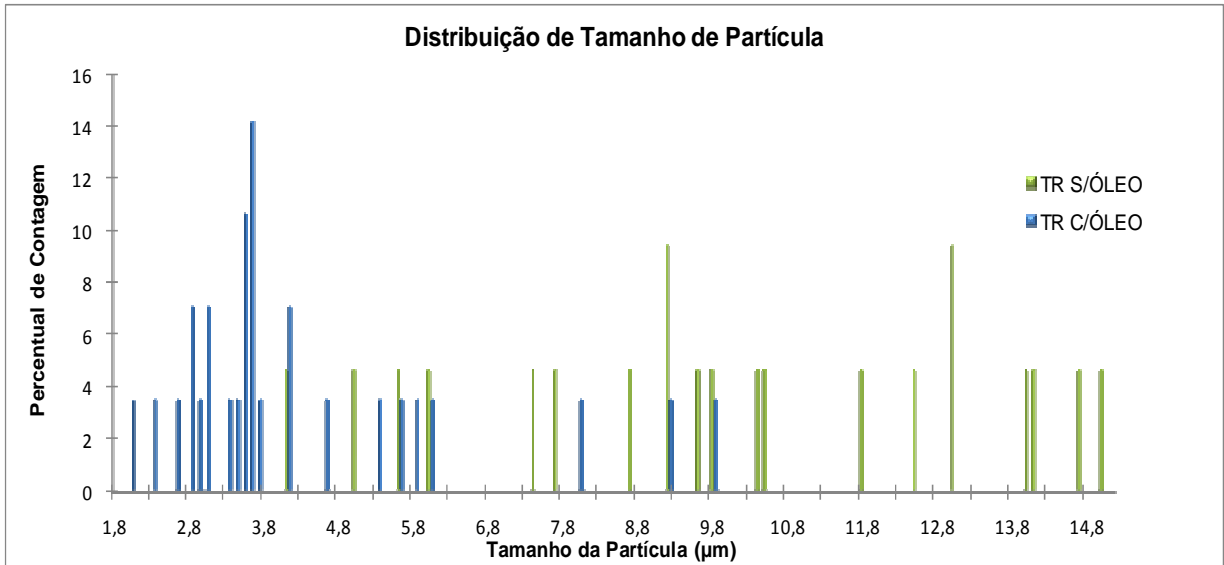


Figura 5.5. Distribuição de tamanho de partículas das amostras TR C/ÓLEO e TR S/ÓLEO.

Dados da literatura (Schaffazick et al., 2003) mostram que o meio oleoso pode influenciar no tamanho da nanopartícula em sistemas vesiculares. Neste estudo percebe-se a influencia do óleo de açaí, porém de maneiras distintas para cada técnica (ultra-turrax e ultrassom). Para a técnica de TR a presença de óleo de açaí proporcionou a produção de micro/nanopartículas homogêneas e de tamanhos menores, entretanto, para a técnica de SM a presença do óleo apresentou micro/nanopartículas com tamanhos maiores. Estes resultados sugerem que além da influência do meio oleoso a técnica de agitação é um fator determinante no tamanho das micro/nanopartículas.

#### 5.4. Liberação de $\alpha$ -TOC *in vitro*

Neste item serão apresentados resultados da liberação de  $\alpha$ -TOC. A quantificação de mesmo foi feita utilizando somente a técnica de UV-Vis (descrita no item 4.3), perda de massa, medidas de pH do meio onde o  $\alpha$ -TOC foi liberado e a morfologia das superfícies, conforme o tempo em que as micro/nanopartículas estiveram sob ação da degradação hidrolítica.

A Figura 5.6 mostra a liberação de  $\alpha$ -TOC durante o ensaio hidrolítico no período de 4, 6, 10, 12, 20, 25 e 30 dias para com as amostras TR C/ÓLEO, TR S/ÓLEO, SM C/ÓLEO, SM S/ÓLEO.

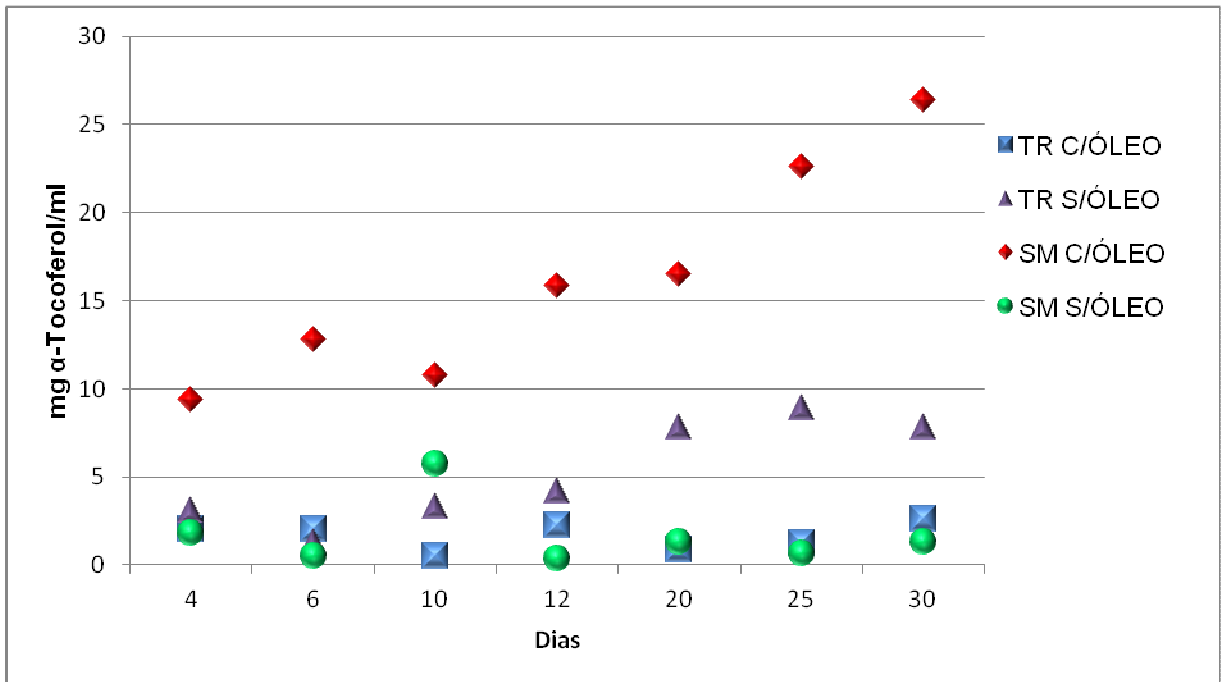


Figura 5.6. Quantidade de  $\alpha$ -TOC liberado (mg/mL) das micro/nanopartículas no intervalo de 4 a 30 dias via degradação hidrolítica.

A liberação do  $\alpha$ -TOC (Figura 5.6) mostrou dois comportamentos distintos: liberação de quantidades crescentes de  $\alpha$ -TOC (TR S/ÓLEO e SM C/ÓLEO) e liberação relativamente constante de  $\alpha$ -TOC ao longo do período de estudo (TR C/ÓLEO e SM S/ÓLEO). Estes comportamentos podem estar associados ao tamanho médio e a distribuição de tamanho das partículas, onde as partículas com tamanhos maiores ( $4,95 \mu\text{m}$  para SM C/ÓLEO e  $15 \mu\text{m}$  para TR S/ÓLEO), bem como distribuições mais alargadas favoreceram a liberação de quantidades crescentes de  $\alpha$ -TOC. Por outro lado, partículas com tamanhos menores ( $0,6 \mu\text{m}$  para SM S/ÓLEO e  $2 \mu\text{m}$  para TR C/ÓLEO) e distribuição de tamanho de partícula em uma faixa mais estreita produziram uma liberação constante de  $\alpha$ -TOC.

Também foi observado na Figura 5.6, que para o grupo com liberação crescente de  $\alpha$ -TOC (TR S/ÓLEO e SM C/ÓLEO) a partir do 12º dia ocorreu um significativo aumento nas quantidades liberadas.

As micro/nanopartículas obtidas com óleo de açaí pela técnica de ultrassom (SM C/ÓLEO) mostram um maior nível de liberação de  $\alpha$ -tocoferol quando

comparado com as partículas obtidas com ultra-turrax (TR C/ÓLEO). Porém, as partículas preparadas por ultrassom sem a presença de óleo de açaí (SM S/ÓLEO) demonstram maior caráter de liberação controlada.

Outros trabalhos da literatura utilizaram diferentes polímeros biodegradáveis para a liberação de  $\alpha$ -TOC com tempo geralmente em torno de 24h, diferentemente dos dados do ensaio de liberação apresentados neste trabalho, pois este ensaio foi adaptado para um período maior, visto que nas primeiras horas de ensaio não houve nenhuma liberação considerável, isso se deve ao comportamento de degradação do poliuretano constatado em trabalhos anteriores (Cabral, 2012).

Em relação ao teor máximo usualmente recomendado para o fim terapêutico (via oral e parenteral) do  $\alpha$ -tocoferol é em torno de 450mg por dia. Já para a via tópica depende do tipo de tratamento o qual está destinado o uso do  $\alpha$ -tocoferol, para combater tipos de ferimentos e queimaduras esses pacientes já possuem a inserção medicamentosa oral ou parenteral do  $\alpha$ -tocoferol, disponibilizando assim por via tópica em torno de 100 a 125mg/dia (Nada et al., 2011; Oliveira e Santos, 2011; Alberts et al. 1996). Os resultados apresentados na liberação estão abaixo das doses terapêuticas do  $\alpha$ -tocoferol. Entretanto estes resultados podem ser modificados através da modificação de alguns parâmetros de preparação das micro/nanopartículas, bem como, pela diminuição da massa molecular do poliuretano. Outro fator que pode influenciar é o pH do meio em que ocorre a liberação, por exemplo, o pH cutâneo é em torno de 5,5 o que pode aumentar a degradação do polímero liberando maior quantidade de substância ativa encapsulada ou retida. Além disso, a formação de uma mistura de micro/nanopartículas (cápsulas e esferas) obtidas neste estudo também deve estar afetando a liberação do  $\alpha$ -TOC já que cada uma possui velocidades de liberação diferentes.

As Figuras 5.8 e 5.8 mostram os resultados de variação de massa e pH no estudo da liberação de  $\alpha$ -TOC via degradação hidrolítica.

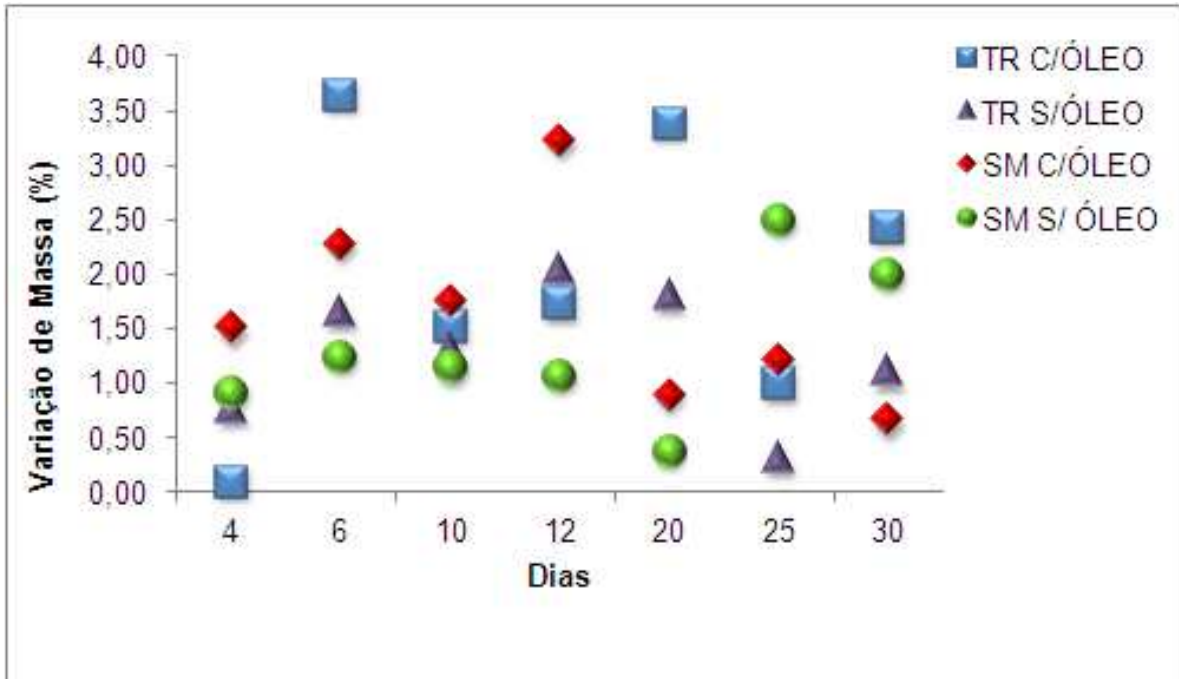


Figura 5.7. Variação de massa (%) das micro/nanopartículas com o tempo de degradação (4 a 30 dias).

De acordo com a Figura 5.7, pode-se observar que as micro/nanopartículas apresentaram uma perda de massa abaixo de 4% quando expostas a degradação hidrolítica no período de 30 dias. Além disso, observou-se uma **variação** na perda de massa após o 12º dia para todas as micro/nanopartículas.

Para uma comparação em relação ao percentual de liberação no primeiro período de ensaios pode-se citar Luo et al. (2011), que utilizou como veículo encapsulador um biopolímero com quitosana para a liberação em meio hidrolítico (PBS), de  $\alpha$ -TOC. O estudo dos autores mostram um percentual em torno de 25% na liberação do  $\alpha$ -TOC (próximo a 80mg) em 1,5 horas e se permaneceu nesta faixa até a última hora de ensaio, sendo este comportamento similar ao obtido nos dados deste trabalho onde nos primeiros períodos de ensaio o percentual máximo de liberação para a maioria das amostras ficou em torno de 3 a 5% (em torno de 15mg) e permaneceu nessa faixa após os primeiros dias de ensaio.

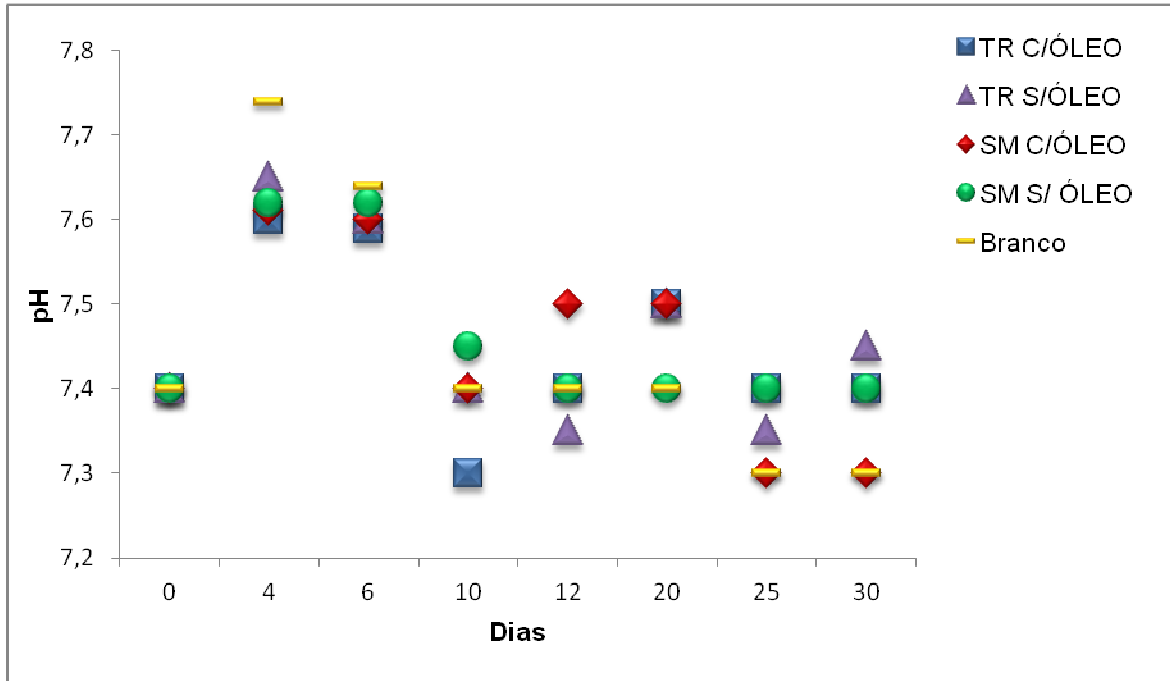


Figura 5.8. Variação do pH das soluções de degradação/ liberação de  $\alpha$ -TOC das micro/nanopartículas de 0 a 30 dias.

O comportamento dos pHs (Figura 5.8) das soluções em que as micro/nanopartículas permaneceram imersas mostraram pequenas variações (em torno de 7,3 a 7,7) para todas as amostras e para as soluções branco (solução tampão fosfato), todas expostas às mesmas condições. Estas variações de pH se devem ao modo de preparo de amostras, bem como pequenas mudanças na temperatura.

Todas as amostras de micro/nanopartículas em 30 dias de exposição à degradação hidrolítica apresentaram pH maior do que 7,0, o que é um bom indicativo, pois segundo Gorna e Gogolewski (2002), a queda no pH é considerado uma desvantagem sobre a degradação de materiais produzidos com biopolímeros.

Outro ponto importante a destacar é que a presença ou não de óleo de açaí e o tipo de técnica (ultrassom ou ultra-turrax) não influenciam significativamente na perda de massa, assim como, no pH durante o ensaio de liberação do  $\alpha$ -TOC via degradação hidrolítica. Contudo, influenciaram de forma importante no comportamento de liberação do fármaco.



### 5.5. Infravermelho das Micro/nanopartículas de PU/ $\alpha$ -TOC

A espectroscopia de infravermelho possibilitou a identificação e determinação dos grupos funcionais confirmando a presença de óleo de açaí e  $\alpha$ -TOC em todas as micro/nanopartículas. A Figura 5.9 apresenta os espectros de IV do  $\alpha$ -TOC, óleo de açaí e PU e a Tabela 5.4 traz as atribuições dos mesmos.

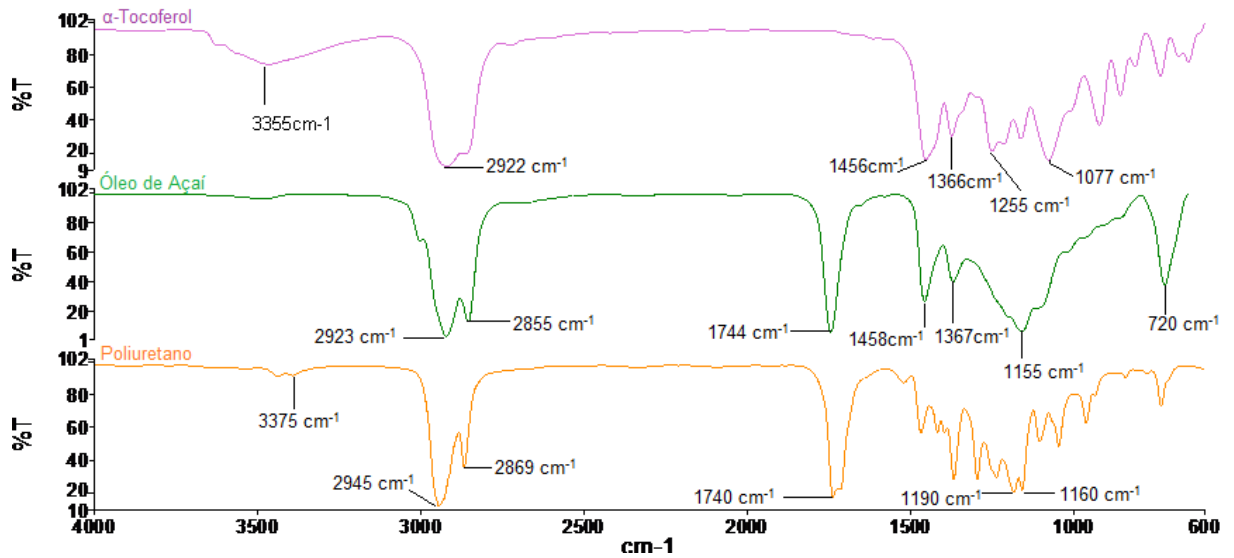


Figura 5.9. Espectros de infravermelho dos materiais:  $\alpha$ -TOC, óleo de açaí e poliuretano.

Tabela 5.4. Atribuições das bandas referentes aos espectros do poliuretano,  $\alpha$ -TOC e óleo de açaí.

	N°.onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições	
Pol. (PU)	3375	vs N-H	Uretano
	2945-2860	vs,as C-H	CH <sub>2</sub>
	1190-1160	v C-O	Éster
	1740	v C=O	Uret./éster
Ól. Açaí	2923-2855	vas,vs C-H	CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub>
	1744	v C=O	Éster
	1458-1367	δs,asC-H	CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub>
	1155	v O-C-C	Éster
$\alpha$ -Tocoferol	720	δas C-H	CH <sub>2</sub>
	3355	v O-H	OH
	2922	vas,vs C-H	CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub>
	1456	vasC-C.	Anel arom.
	1366	δs,asC-H	CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub>
	1255 e 1077	v $\begin{array}{c}   \quad   \\ =C-O-C- \\   \end{array}$	Éter
	1244	vs C-H	CH <sub>2</sub>
1148	v C-O	Éster	

Legenda: v- deformação axial, as- assimétrico, s- simétrico, δ- deformação angular no plano.

As Figuras 5.10, 5.11, 5.12 e 5.13 apresentam os espectros de IV obtidos para as micro/nanopartículas obtidas por diferentes de técnicas (ultrassom e ultraturrax) e em função do tempo de degradação. Os espectros completos de todas as amostras encontram-se no anexo A.

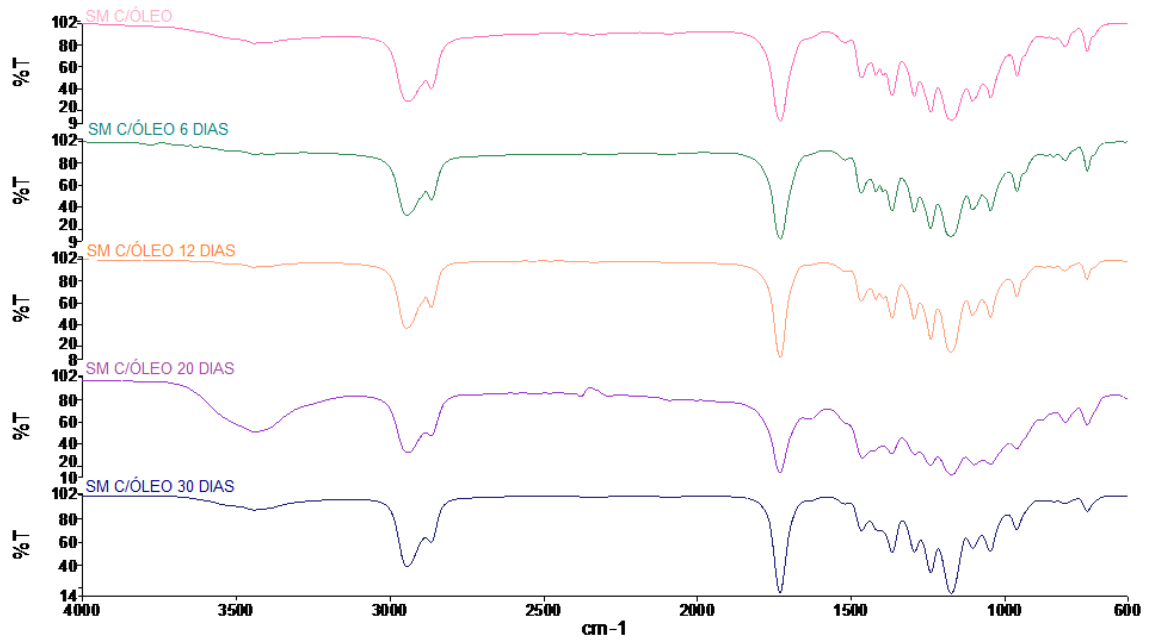


Figura 5.10. Espectros de infravermelho das micro/nanocápsulas: SM C/ÓLEO original e de 6, 12, 20 e 30 dias de liberação.

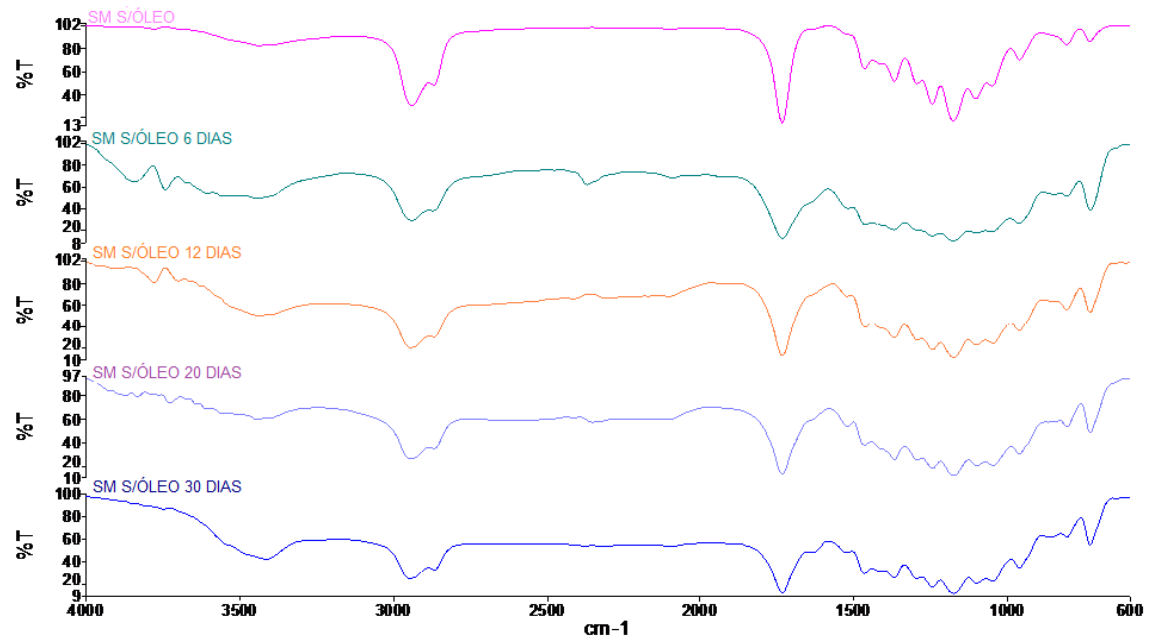


Figura 5.11. Espectros de infravermelho das micro/nanocápsulas: SM S/ÓLEO original e de 6, 12, 20 e 30 dias de liberação.

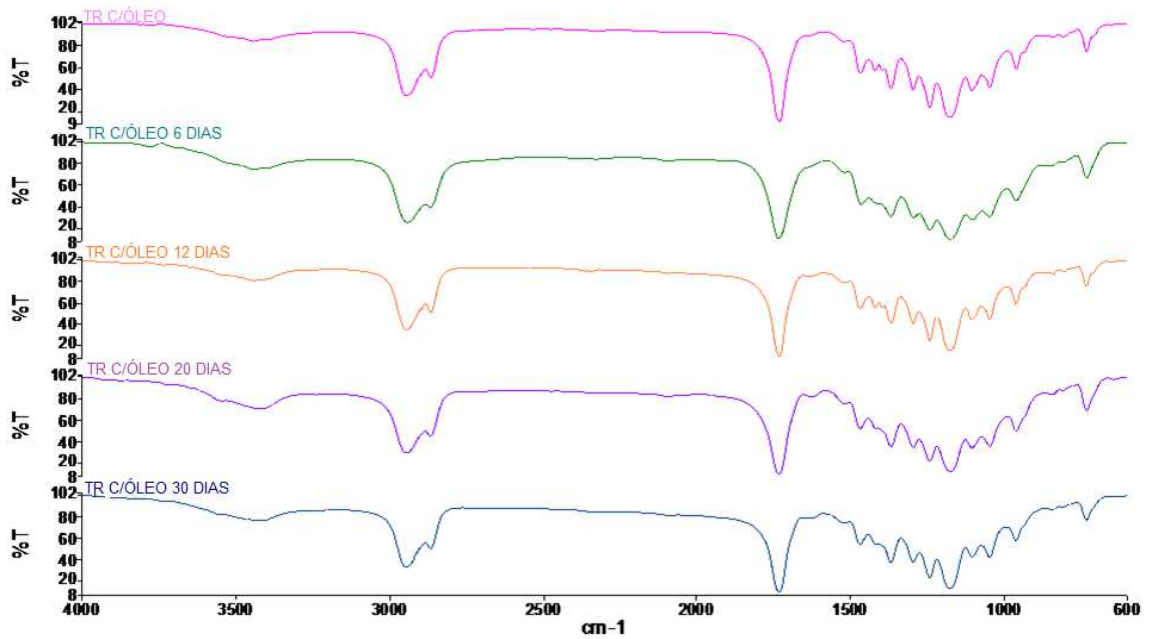


Figura 5.12. Espectros de infravermelho das micro/nanocápsulas: TR C/ÓLEO original e de 6, 12, 20 e 30 dias de liberação.

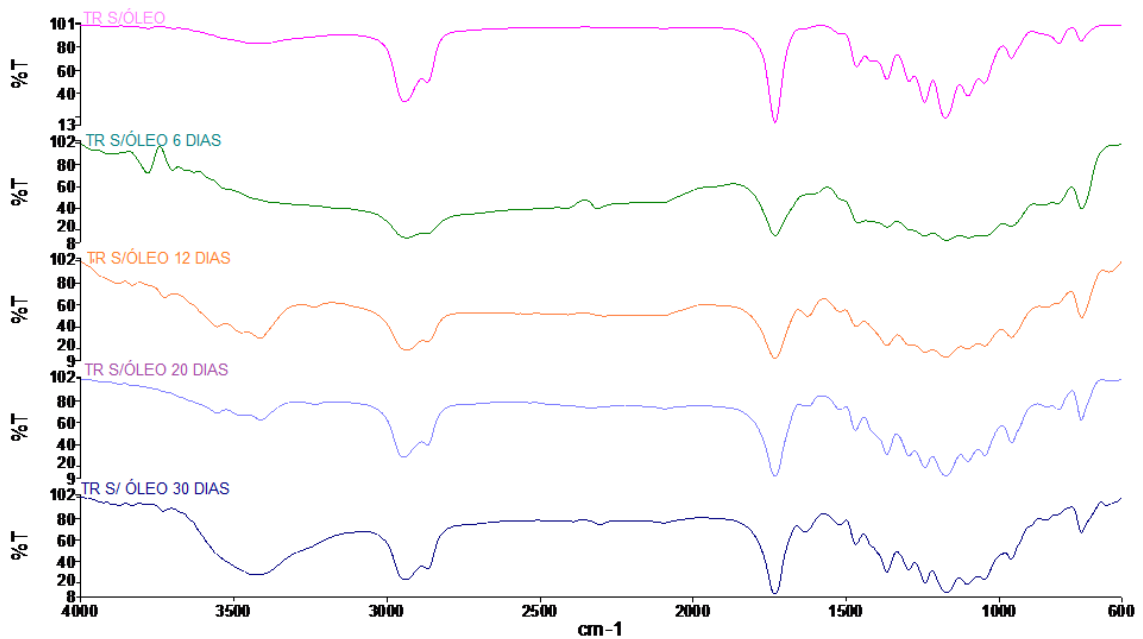


Figura 5.13. Espectros de infravermelho das micro/nanocápsulas: TR S/ÓLEO original e de 6, 12, 20 e 30 dias de liberação.

É possível observar nos espectros de todas as micro/nanopartículas, preparadas com e sem óleo de açaí, as bandas características de  $\alpha$ -TOC por meio do sinal em torno de  $1456\text{ cm}^{-1}$  característico do esqueleto fenólico, em  $1366\text{ cm}^{-1}$  do

estiramento simétrico de metila e também as bandas de 1255 e 1077  $\text{cm}^{-1}$  características do grupamento éter cíclico. Estes espectros também apresentam banda 3375  $\text{cm}^{-1}$  que caracteriza o estiramento do grupo NH pertencente ao grupo uretano, bandas entre 2860-2945  $\text{cm}^{-1}$ , característica da vibração assimétrica e simétrica do grupo  $\text{CH}_2$ , banda em 1740  $\text{cm}^{-1}$  do grupo  $\text{C}=\text{O}$  dos grupos uretano e éster e banda entre 1160-1190  $\text{cm}^{-1}$  característica da ligação  $\text{C}-\text{O}$  do éster (Silverstein et al. 1979).

De acordo com Velho (2011), os espectros das amostras que possuem óleo de açaí (Figura 5.10 e 5.12) apresentam bandas características do mesmo em, 1744  $\text{cm}^{-1}$  característico do grupamento  $\text{C}=\text{O}$  de éster, em 1458  $\text{cm}^{-1}$  atribuída à deformação angular no plano de  $\text{CH}$ , banda em 1155  $\text{cm}^{-1}$  é característica da deformação axial do grupamento  $\text{O}-\text{C}-\text{C}$  e as bandas de média intensidade observadas na região de 720  $\text{cm}^{-1}$  que são características de deformação angular no plano de  $\text{CH}_2$  tanto para alcanos como para alquenos.

Os espectros de IV de todas as partículas indicam a presença de  $\alpha$ -TOC e óleo de açaí (Figuras 5.10 e 5.12), e somente  $\alpha$ -TOC (Figuras 5.11 e 5.13 sem a presença de óleo de açaí). A região de 1731  $\text{cm}^{-1}$  apresentou um alargamento desta banda nas micro/nanocápsulas, indicativo da sobreposição dos sinais  $\text{C}=\text{O}$  do PU e óleo de açaí.

## **5.6. Microscopia de Varredura Eletrônica das Micro/nanopartículas após a Liberação do $\alpha$ -TOC**

As micrografias são apresentadas nas Figuras 5.14, 5.15, 5.16 e 5.17 e representam as amostras submetidas à degradação hidrolítica, SM C/ÓLEO (4-30dias), SM S/ÓLEO (4-30dias), TR C/ÓLEO (4-30dias) e TR S/ÓLEO (4-30dias), respectivamente. As imagens de MEV não apresentadas nas figuras citadas acima estão no anexo A.

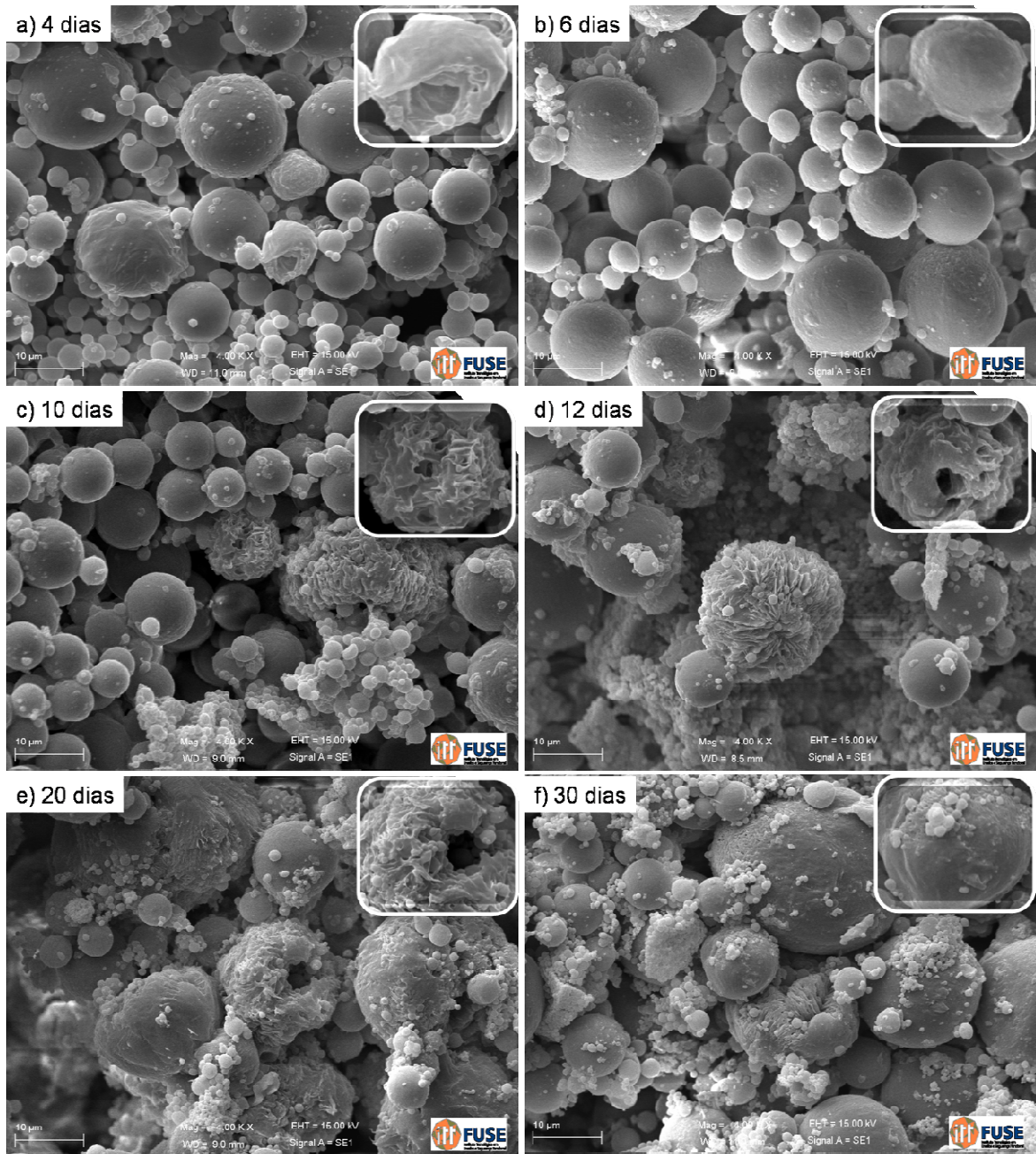


Figura 5.14. Micrografias das micro/nanocápsulas SM C/ÓLEO em 4, 6, 10, 12, 20 e 30 dias no ensaio hidrolítico.



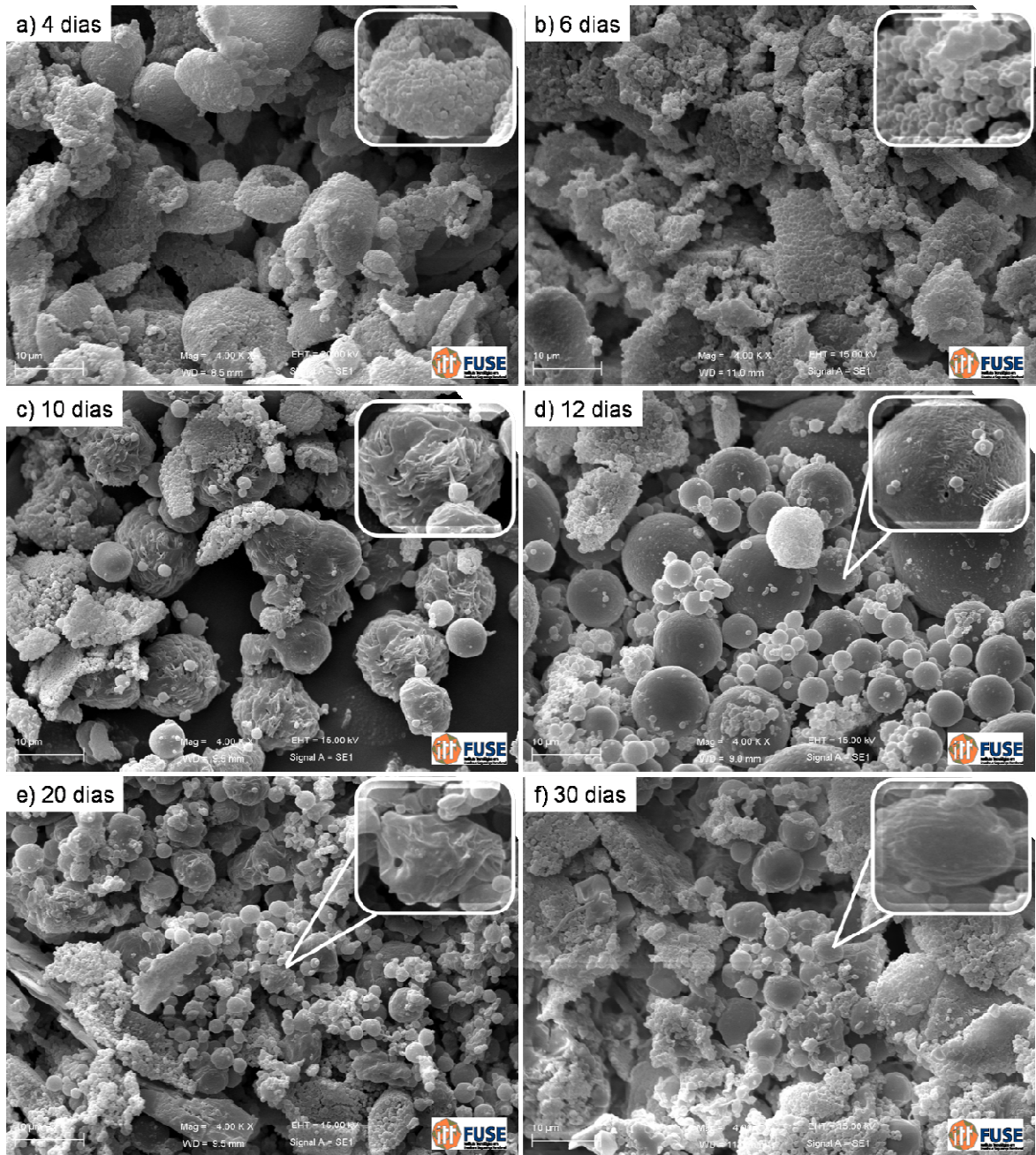


Figura 5.15. Micrografias das micro/nanocápsulas SM S/ÓLEO em 4, 6, 10, 12, 20 e 30 dias no ensaio hidrolítico.

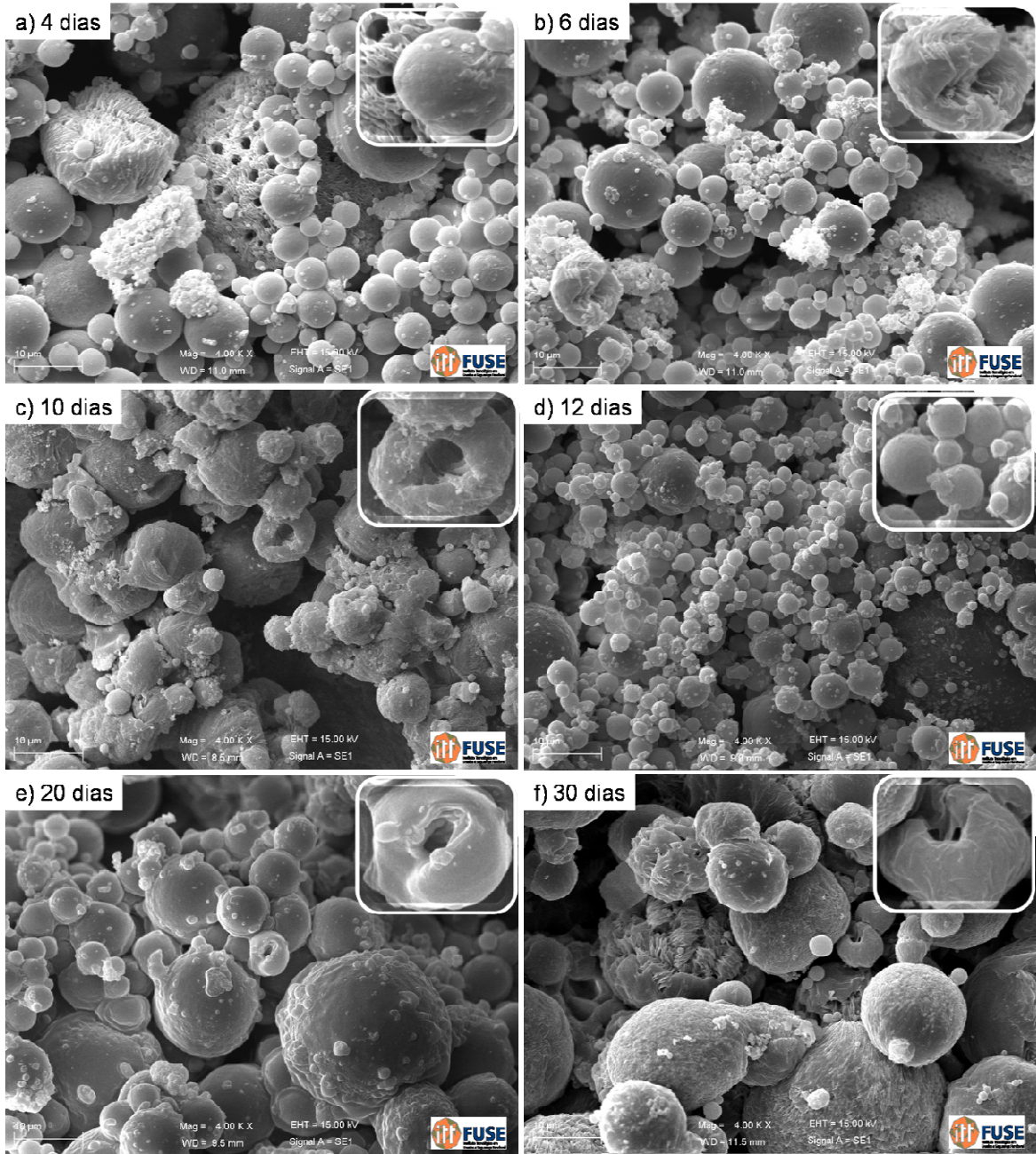


Figura 5.16. Micrografias das micro/nanocápsulas TR C/ÓLEO em 4, 6, 10, 12, 20 e 30 dias no ensaio hidrolítico.



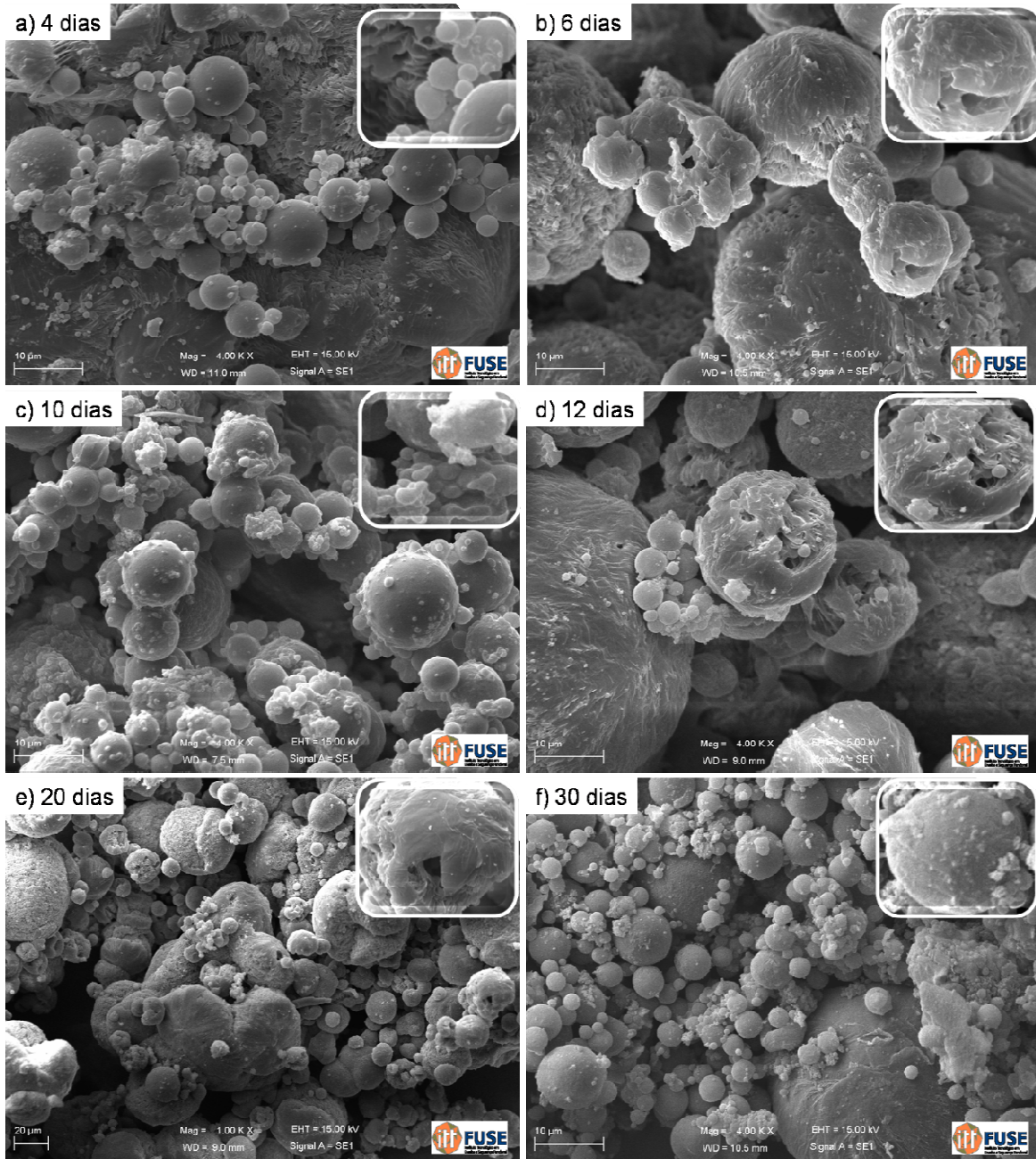


Figura 5.17. Micrografias das micro/nanocápsulas TR SÓLEO em 4, 6, 10, 12, 20 e 30 dias no ensaio hidrolítico.

Em todas as amostras foi possível notar que as micro/nanopartículas apresentaram erosão da superfície e em algumas ocorreu o rompimento das mesmas. Estes comportamentos são característicos do processo de liberação do fármaco.

Nas micro/nanopartículas com óleo de açaí (Figura 5.14 e 5.16), observa-se um maior número de partículas rompidas indicando, pela morfologia, serem micro/nanocápsulas.

Já nas micro/nanopartículas sem a presença de óleo de açaí (Figura 5.15 e 5.17) poucas partículas possuem núcleos apontados pelo rompimento das mesmas, enquanto outras micro/nanopartículas apresentam a morfologia de matriz sólida característica de micro/nanoesferas.

Observou-se também que após 20 dias ocorreu rompimento em boa parte das micro/nanocápsulas indicando que houve a liberação do  $\alpha$ -TOC. Este resultado confirma o obtido no estudo de liberação, onde a partir de 20 dias para todas as partículas houve um aumento significativo na quantidade de  $\alpha$ -TOC liberado até atingir a liberação controlada.

### **5.7. Análise Termogravimétrica das Micro/nanopartículas após a liberação do $\alpha$ -TOC**

As Figuras 5.18, 5.19, 5.20 e 5.21 mostram as curvas termogravimétricas das micro/nanopartículas preparadas por ultrassom com óleo de açaí e após ensaio de liberação de  $\alpha$ -TOC, por ultrassom sem óleo de açaí e após ensaio de liberação de  $\alpha$ -TOC, por ultra-turrax com óleo açaí e após ensaio de liberação de  $\alpha$ -TOC e por ultra-turrax sem óleo de açaí e após ensaio de liberação de  $\alpha$ -TOC, respectivamente. Os termogramas com a primeira derivada não apresentados nas figuras estão no anexo A.

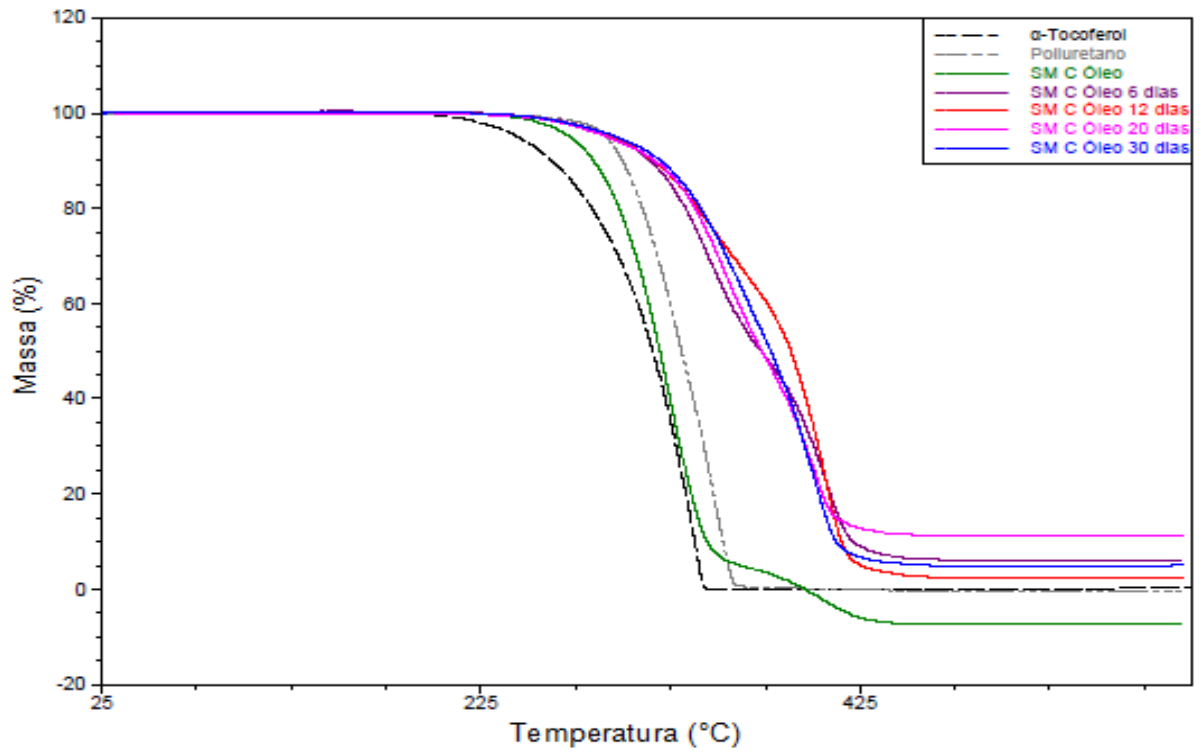


Figura 5.18. Termogramas de SM C ÓLEO e com 6, 12, 20 e 30 dias de degradação hidrolítica.

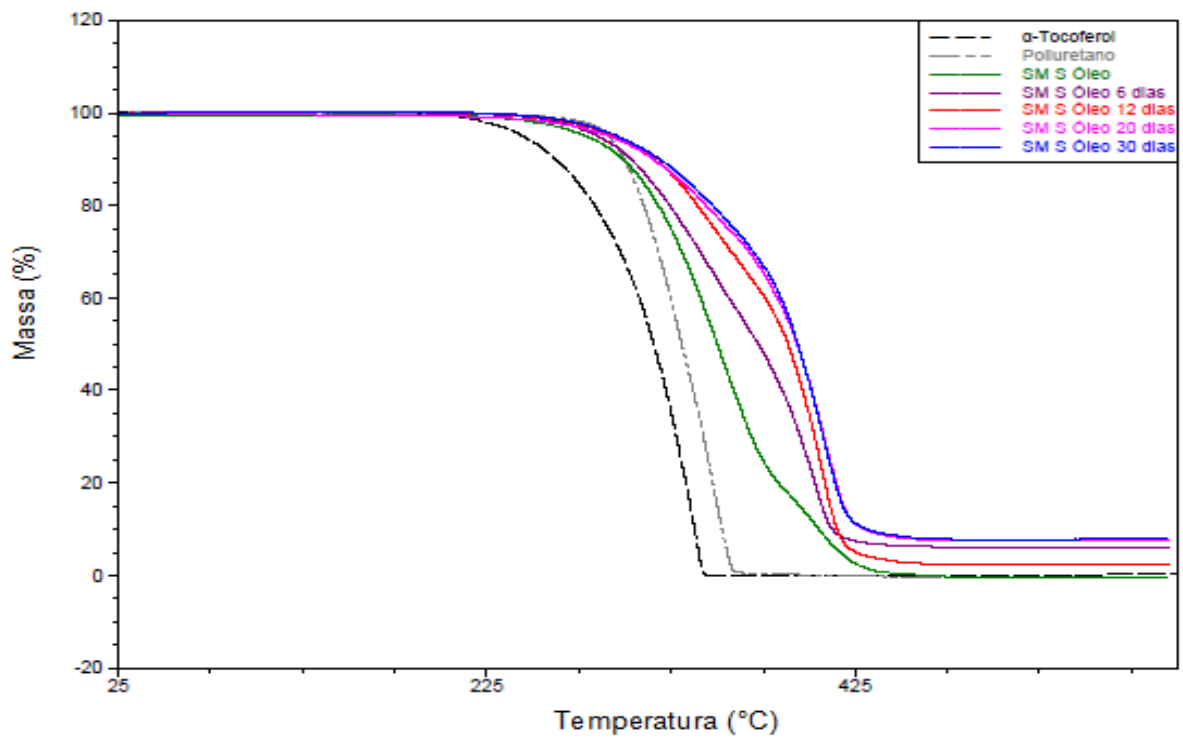


Figura 5.19. Termogramas de SM S ÓLEO e com 6, 12, 20 e 30 dias de degradação hidrolítica.

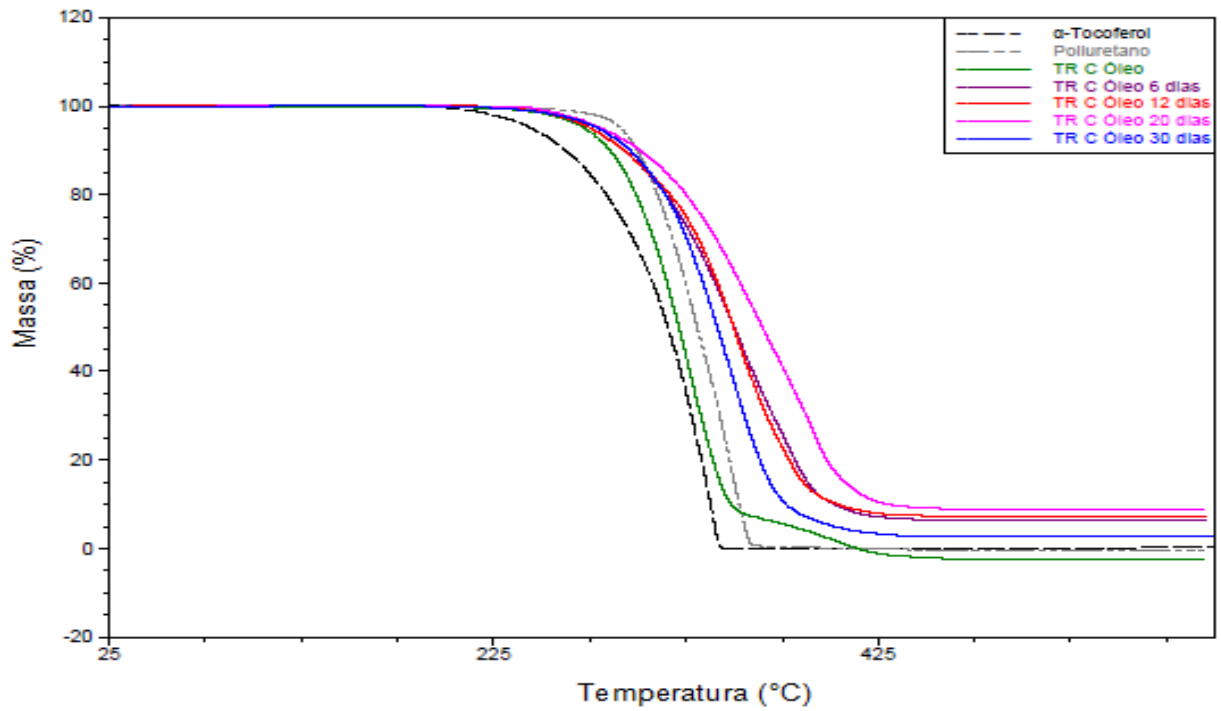


Figura 5.20. Termogramas de TR C/ÓLEO e com 6, 12, 20 e 30 dias de degradação hidrolítica.

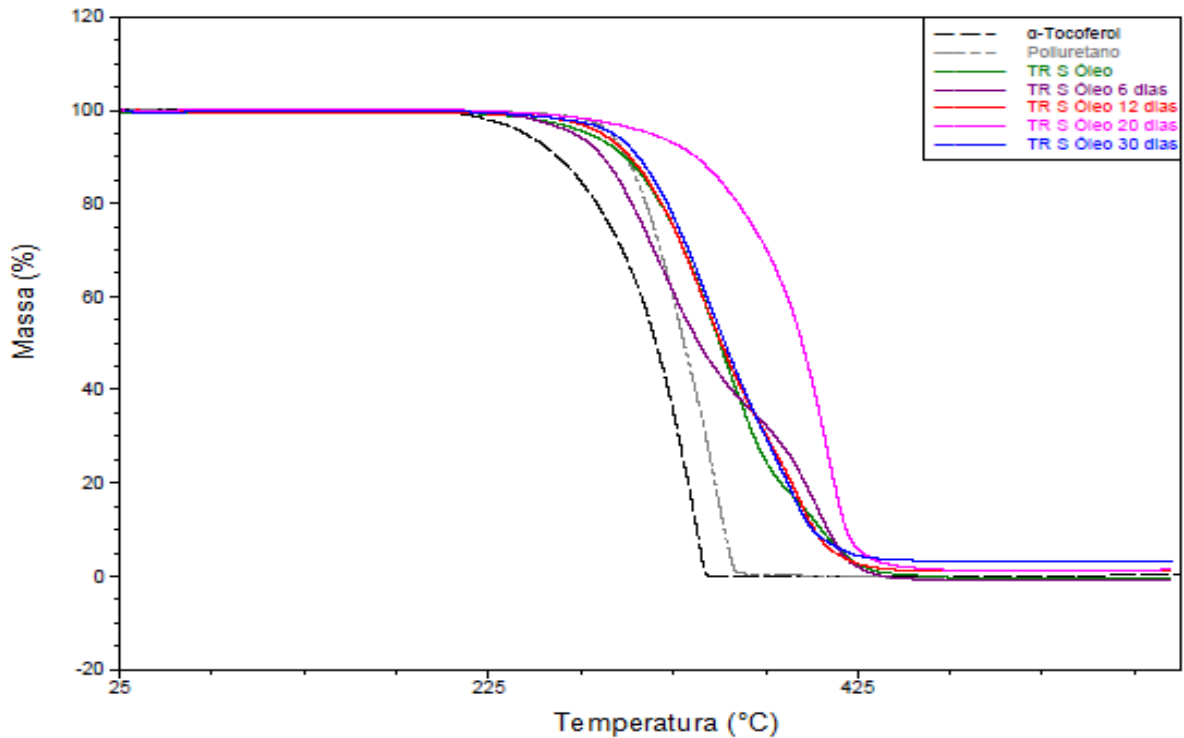


Figura 5.21. Termogramas de TR S/ÓLEO e com 6, 12, 20 e 30 dias de degradação hidrolítica.

O poliuretano sintetizado possui uma temperatura inicial de degradação térmica próxima de 253°C e temperatura final de degradação em 359°C e o  $\alpha$ -TOC apresenta a temperatura inicial de degradação térmica em torno de 220°C e temperatura final de degradação próxima a 343°C o que está de acordo com a literatura Arora et al., (2010).

Os termogramas de todas as micro/nanopartículas (antes da degradação hidrolítica) apresentaram um comportamento diferente do PU puro, sobretudo nas regiões iniciais e finais da curva de degradação. Este é um efeito da presença  $\alpha$ -TOC e óleo de açaí (quando presente). Além disso, as micro/nanopartículas com óleo de açaí, SM C/ÓLEO (Figura 5.18) e TR C/ÓLEO (Figura 5.20) apresentaram uma segunda etapa de degradação visível (na forma de um ombro) na parte final da curva indicando nitidamente a presença do óleo de açaí.

Nas Tabelas 5.5 e 5.6 são apresentados os percentuais de resíduos obtidos a partir das curvas termogravimétricas das micro/nanopartículas preparadas por ultrassom e ultra-turrax (com e sem óleo de açaí), antes e após os ensaios de liberação de  $\alpha$ -TOC.

Tabela 5.5. Tabela de resíduos (%) para micro/nanopartículas preparadas com ultra-turrax.

Tempo de degradação (dias)	(%) Resíduos	
	TR C/ÓLEO	TR S/ÓLEO
<b>0</b>	1,14	0,01
<b>6</b>	6,57	1,10
<b>12</b>	7,42	1,10
<b>20</b>	8,87	1,34
<b>30</b>	2,61	3,24

Tabela 5.6. Tabela de resíduos (%) para micro/nanopartículas preparadas com ultrassom.

Tempo de degradação (dias)	(%) Resíduos	
	SM C/ÓLEO	SM S/ÓLEO
0	1,93	0,07
6	14,90	6,26
12	2,53	6,24
20	11,22	7,59
30	5,00	7,93

É possível observar nas Tabelas 5.5 e 5.6, que o percentual residual das micro/nanopartículas após o processo de degradação é maior quando comparado com as micro/nanopartículas sem contato com ensaio hidrolítico (dia 0). Este comportamento pode estar associado à presença de sais proveniente da solução tampão PBS do ensaio hidrolítico e também de impurezas que podem estar presente durante a secagem das mesmas á vácuo.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação ao uso de poliuretano biodegradável para formação de micro/nanopartículas e a influência do núcleo oleoso e das técnicas de agitação (ultra-turrax e ultrassom) foi possível concluir que:

- A técnica de emulsão múltipla mostrou-se uma técnica mais adequada para a preparação de microcápsulas de PU/ $\alpha$ -tocoferol com diferentes técnicas (ultrassom e ultra-turrax);

- A presença do óleo de açaí influenciou diretamente a formação das micro/nanopartículas, porém de forma diferente para as técnicas utilizadas. Utilizando o ultrassom as partículas apresentaram tamanhos maiores com óleo de açaí e menores sem a presença do óleo (faixa nanométrica), diferentemente do resultado por ultra-turrax. Dessa forma, é possível concluir que o conjunto óleo de açaí e a técnica de agitação possuem efeito no tamanho de partícula;

- A morfologia das micro/nanopartículas submetidas às análises de degradação hidrolítica, apresentaram na sua grande maioria rompimentos, sendo o maior número em 12 a 30 dias;

- As análises de IV e TGA indicaram a presença de  $\alpha$ -tocoferol nas micropartículas sintetizadas, assim como a sua ausência durante a degradação indicando a liberação do  $\alpha$ -tocoferol. Os espectros e termogramas apontam nitidamente a presença ou não do óleo de açaí, bem como o efeito do mesmo;

- Quanto à eficiência de encapsulamento foi possível constatar a significativa efeito do óleo de açaí, sendo a EE obtida na faixa de 14 a 23% sem a presença de

óleo de açaí, e 34 a 44% com o óleo de açaí, para ambas as técnicas, indicando-o como um excelente veículo para a dissolução do tocoferol por possuir propriedades essenciais para atuar núcleo oleoso de micro/nanocápsulas;

- Cabe salientar que o método de ultrassom apresentou melhores resultados na eficiência de encapsulamento com ou sem a presença de óleo (~20% sem óleo e ~40% com óleo);

- Ainda em relação aos resultados de eficiência de encapsulamento percebe-se a semelhança quantitativa das técnicas de CLAE e UV-Vis, o que torna a técnica de UV-Vis confiável, além de se tratar de uma técnica de fácil acesso, simples manejo, e de baixo custo;

A partir dos resultados obtidos deste estudo é possível afirmar que o poliuretano sintetizado possui um grande potencial como uma excelente matriz para a preparação de micro/nanocápsulas e com boa estabilidade de liberação contínua



## 7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliação por RMN-<sup>1</sup>H das micro/nanopartículas sintetizadas e após estudo de liberação;
- Análise *in vitro* até 270 dias;
- Uso de diferentes fármacos a serem encapsulados pelo poliuretano;
- Combinar outras técnicas de emulsão e de preparação como, por exemplo, *electrospinning*;
- Modificação de alguns parâmetros de preparação para atingir a escala manométrica;

## 8. PUBLICAÇÕES DESTE TRABALHO

1. SANTOS, F. G.; Grams, E. ; Einloft, S.; Ligabue, R. Efeito da concentração de surfactante no tamanho de microcápsulas de poliuretano contendo  $\alpha$ -tocoferol. In: **12° Congresso brasileiro de polímeros**, 2013, Florianópolis. Anais 12º Congresso brasileiro de polímeros, 2013.
2. SANTOS, F. G.; Einloft, S.; Ligabue, R. Stability study and controlled release of PU microcapsules with E vitamin. In: **II Congreso interdisciplinario de nanotecnología y biomateriales**, 2013, Montevideu. Anais II Congreso interdisciplinario de nanotecnología y biomateriales, 2013.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMELLER, T.; Marsaud, V.; Legrand, P.; Gref, R.; Barratt, G.; Renoir, J. M. Polyester–poly(ethylene glycol) nanoparticles loaded with the pure antiestrogen ru 58668: physicochemical and opsonization properties. **Pharmaceutical Research**, v. 20, n. 7, 2003.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard Test Method for *in vitro* Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants, ASTM F1635. 2010.

ALPHANDARY, H. P.; Andremont, A.; Couvreur, P. Targeted delivery of antibiotics using liposomes and nanoparticles: research and applications. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 13, p. 155–168, 2000.

ARORA, S.; Bagoria, R.; Kumar, M. Effect of alpha-tocopherol (vitamin E) on the thermal degradation behavior of edible oils. **Journal Therm Anal Calorim**, v.102, p.375–381, 2010.

ASUA, J. M. Miniemulsion Polymerization. **Prog. Polymers Science**. v. 27, p. 1283-1346, 2002.

BARBOSA, F. F. S. **Influência dos antioxidantes na qualidade do sémen de homens em tratamento de fertilidade**. Lisboa. 2009. 70p. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente). Pós Graduação Ciências. Universidade de Lisboa Faculdade de Departamento de Biologia Animal, Portugal.

BERACA SABARÁ. **Óleo de acai refinado – Rain Forest RF4410**. Informe técnico. 2012.

BORELLI, V.; Medeiros, F.; Maia, M.; Medeiros, R.; Higa, O. Z. Biocompatibilidade de Biomateriais: Estudo Exploratório sobre a Aplicação da Norma ISO 10.993. In: **COLAOB, The 6th Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials**. Disponível em: <<http://www.ipen.br/biblioteca/2010/eventos/16145.pdf>>. Acesso em 10 outubro de 2012.

BOUCHEMAL, K.; Briançon, S.; Perrier, E.; Fessi, H.; Bonnet, I.; Zydowicz, N. Synthesis and characterization of polyurethane and poly(ether urethane) nanocapsules using a new technique of interfacial polycondensation combined to spontaneous emulsification. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, p. 89–100, 2004.

BRAITHWAITE, M. C.; Tyag, C.; Tomar, L. K.; Kumar, P.; Choonara, Y. E.; Pillay, V. Nutraceutical-based therapeutics and formulation strategies augmenting their efficiency to complement modern medicine: An overview. **JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS**, v. 6, p. 82–99, 2014.

BYUN, Y.; Hwang, J. B.; Bang, S. H.; Darby, D.; Cooksey, K.; Dawson, P. L.; Park, H. J.; Whiteside, S. Formulation and characterization of  $\alpha$ -tocopherol loaded polycaprolactone (PCL) nanoparticles. **Food Science and Technology**, v. 44, p. 24-28, 2011.

CABRAL, P. K. A. **Sistemas de liberação controlada de drogas: uma revisão**. Campina Grande. 2004. 46p. Monografia (Curso de Medicina Veterinária- médico veterinário). Curso de medicina veterinária. Universidade Federal de Campina Grande centro de saúde e tecnologia rural campus de patos, Paraíba.

CABRAL, E. L. **Síntese e caracterização de poliuretanos bioestáveis com potencial aplicação na área cardiovascular**. Porto Alegre. 2012. 95p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil.

- CARNEIRO, H. C. F.; Tonon, R. V.; Grosso, C. R. F.; Hubinger, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineer.** v. 115, p. 443–451, 2013.
- CHATTOPADHYAY, D.K.; Raju, K.V.S.N. Structural engineering of polyurethane coatings for high performance applications. **Progress in Polymer Science**, v. 32, p. 352–418, 2007.
- CHATTOPADHYAY, D.K.; Webster, D. C. Thermal Stability and Flame Retardancy of Polyurethanes. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 1068–1133, 2009.
- CHEN, Y.; Wang, R.; Zhou, J.; Fan, H.; Shi, B. On-demand drug delivery from temperature-responsive polyurethane membrane. **Reactive and Functional Polymers.** v.71. p. 525–535. 2011.
- CHERNG, J. Y.; Hou T. Y.; Shih, M. F.; Talsma, H.; Hennink, W. E. Polyurethane-based drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics.** v.450, p.145– 162, 2013.
- GAUDIN, F.; Zydowicz, N. S. Core–shell biocompatible polyurethane nanocapsules obtained by interfacial step polymerisation in miniemulsion **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 331, p. 133–142, 2008.
- GONNET, M.; Lethuaut, L.; Boury, F. New trends in encapsulation of liposoluble vitamins. **Journal of Controlled Release**, v. 146, p. 276–290, 2010.
- GORNA, K.; Gogolewski, S. In vitro degradation of novel medical biodegradable aliphatic polyurethanes based on E-caprolactone and Pluronics® with various hydrophilicities. **Polymer Degradation and Stability**, v. 75, n. 1, p. 113-122, junho 2002.
- GRIFFITH, L. G. Polymeric Biomaterials. **Acta Materialia**, v. 48, p. 263–277, 2000.

HALLIDAY, A. J.; Moulton, S. E.; Wallace, G. G.; Cook, M. J. Novel methods of antiepileptic drug delivery — Polymer-based implants. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 953–964, 2012.

HATANAKA, J.; Chikamor, H.; Sato, H.; Uchida, S.; Debari, K.; Onoue, S.; Yamada, S. Physicochemical and pharmacological characterization of  $\alpha$ -tocopherol loaded nano-emulsion system **International Journal of Pharmaceutics**, v. 396, p. 188–193, 2010.

HEINRICH, M.; Dhanji, T.; Casselman, I. Açai (Euterpe oleracea Mart.)—A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. **Phytochemistry Letters**, v. 4, p. 10–21, 2011.

HUYNH, T. T. N.; Padois, K.; Sonvico, F.; Rossi, A.; Zani, F.; Pirot, F.; Doury, J.; Falson, F. Characterization of a polyurethane-based controlled release system for local delivery of chlorhexidine diacetate. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 74, p. 255–264, 2010.

HOLZ, J. P. **Preparação de Micro e Nanoesferas de PLGA com Mentol**. Porto Alegre. 2012. 83p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil.

HOWARD, G.T.; Biodegradation of polyurethane: a review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 49, p. 245 – 252, 2002.

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

IBARBOURE, E.; Baron, A.; Papon, E.; Hernandez, J. R. Self-assembly of graft polyurethanes having both crystallizable poly( $\epsilon$ -caprolactone) blocks and soft poly(n-butyl acrylate) segments. **Thin Solid Films**. v. 517, p. 3281–3286, 2009.

IBRAHEEM, D.; Iqbal, M.; Agusti, G.; Fessi, H.; Elaissari, A. Effects of process parameters on the colloidal properties of polycaprolactone microparticles prepared by double emulsionlike process. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects** . v. 445, p. 79– 91, 2014.

JAFFE, M.; Ophir, Z.; Pai, V. Biorelevant characterization of biopolymers. **Thermochimica Acta**, v. 396, p. 141–152, 2003.

JAIN, A. K.; Goyal, A. K.; Gupta, P. N.; Khatri, K.; Mishra, N.; Mehta, A.; Mangal S.; Vyas, S. P. Synthesis, characterization and evaluation of novel triblock copolymer based nanoparticles for vaccine delivery against hepatitis B. **Journal of Controlled Release**, v. 136, p. 161–169, 2009

KANG, J.; Thakali, K. M.; Xie, C.; Kondo, M.; Tong ,Y.; Ou, B.; Jensen, G.; Medina, M.B.; Schauss, A. G.; Wu, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatória* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 133, p. 671–677, 2012.

KHAYATA, N.; Abdelwahed, W.; Chehna, M. F.; Charcosset, C.; Fessi, H. Preparation of vitamin E loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method: From laboratory scale to large scale using a membrane contactor. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 423, p. 419– 427, 2012.

KHAYATA, N.; Abdelwahed, W.; Chehna, M.F.; Charcosset, C.; Fessi, H. Stability study and lyophilization of vitamin E-loaded nanocapsules prepared by membrane contactor. **International Journal of Pharmaceutics**, article in press, 2012.

KORN, M.; Andrade, M. S.; Borges, S. S. Procedimentos Analíticos Assistidos por Ultrassom. **Revista Analytica**. v.03, p. 34-39, 2003.

LEITE, H. M. E. **Formulação e caracterização de matrizes de polihidroxibutirato para liberação controlada de fármacos**. dissertação (Mestre em Engenharia e Ciências dos Materiais).Campos dos Goytacazes. 2004. 92p. Laboratório de

Materiais Avançados do Centro de Ciências e Tecnologia. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Brasil.

LIECHTY, W. B.; Peppas, N. A. Expert opinion: Responsive polymer nanoparticles in cancer therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, p. 241-246, 2012.

LIGABUE, R.; Einloft, S.; Dullius, J.; Gracioli, E.; Dias, G. T. G.; Jahno, V. Uso de Membranas Biopoliméricas em Próteses Cardiovasculares. 2011, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: PI11069929, data de depósito: 29/12/2011, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

LORENZETTI, S. G. **Obtenção dos Sistemas Bioconjugados Crotoxina/PEBD-g-PHEMA e Crotoxina/PCL**. São Paulo. 2006. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo, Brasil.

LUO, Y.; Zhang, B.; Whent, M.; Yu, L.; Wang, Q. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol, and its in vitro controlled release study. **Colloids and Surfaces**. v. 85, p. 145–152, 2011.

MACHADO, A. C. H. R. **Desenvolvimento e avaliação da incorporação e liberação de óleo de açaí em hidrogéis de poli(N-vinil-2-pirrolidona)**. São Paulo. 2010. 125p. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo, Brasil.

MAVON, A.; Raufast, V.; Redoule D. Skin absorption and metabolism of a new vitamin E prodrug,  $\gamma$ -tocopherol-glucoside: in vitro evaluation in human skin models. **Journal of Controlled Release**, v. 100, p. 221–231, 2004.

MOHANRAJ, V. J.; Chen, Y. Nanoparticles – A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, p 561-573, 2006.



MUSYANOVYCH, A.; Wienke, J. S.; Mailander, V.; Walther, P.; Landfester, K. Preparation of biodegradable polymer nanoparticles by miniemulsion technique and their cell interactions. **Macromol. Biosci.** WILEY-VCH. v. 8, p. 127–139, 2008.

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

NORONHA, C. M.; Granada, A. F.; Carvalho, S. M.; Lino, R. C.; Maciel, M. V. O. B.; Barreto, P. L. M. Optimization of  $\alpha$ -tocopherol loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method. **Industrial Crops and Products**. v. 50, p. 896– 903, 2013.

RADTCHENKO, I. L.; Sukhorukov, G. B.; Möhwald, H. A novel method for encapsulation of poorly water-soluble drugs: precipitation in polyelectrolyte multilayer shells. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 242, p. 219–223, 2002.

RAO, J. P.; Geckeler, K. E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 887–913, 2011.

REIS, C. P.; Neufeld, R. J.; Ribeiro, A. J.; Veiga, F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 2, p.8– 21, 2006.

SALDEEN, K.; Saldeen, T. T. Importance of tocopherols beyond  $\alpha$ -tocopherol: evidence from animal and human studies. **Nutrition Research**, v. 25, p. 877–889, 2005.

SCHAFFAZICK, S. R.; Guterres, S. S.; Freitas, L. L.; Pohlmann, A. R. Caracterização e Estabilidade Físico-Química de Sistemas Poliméricos Nanoparticulados para Administração de Fármacos. **Química. Nova**, v. 26, p. 726-737, 2003.

SILVERSTEIN, R. M.; Webster, F. X; Kiemle, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 6ª ed. Westford: Jhon Qiley and Sons, INC, pp.1-10, 72-108, 2005.

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

STELLA, B.; Arpicco, S.; Rocco, F.; Marsaud, V.; Renoir, J.M.; Cattel, L.; Courveur, P. Encapsulation of gemcitabine lipophilic derivatives into polycyanoacrylate nanospheres and nanocapsules. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 344, p. 71-77, 2007.

SUN, X.; Gao, H.; Wu, G.; Wang, Y.; Fan, Y.; Ma, J. Biodegradable and temperature-responsive polyurethanes for adriamycin delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 412, p. 52–58, 2011.

SUN, Y.; Wang, J. C.; Zhang, X.; Zhang, Z.; Zheng, Y.; Chen, D.; Zhang, Q. Synchronic release of two hormonal contraceptives for about one month from the PLGA microspheres: In vitro and in vivo studies. **Journal of Controlled Release**, v. 129, p. 192–199, 2008.

SURASSMO, S.; Min, S.; Bejrappa, P.; Choi, M. Effects of surfactants on the physical properties of capsicum oleoresin-loaded nanocapsules formulated through the emulsion–diffusion method. **Food Research International**, v. 43, p. 8–17, 2010.

TÔRRES, P. P. B. F. **Terapia nutricional parenteral, aspectos farmacêuticos**. Especialista em terapia nutricional pela SBNPE disponível em: < [www.huwc.ufc.br/arquivos/biblioteca\\_cientifica/1175295398\\_90\\_0.pdf](http://www.huwc.ufc.br/arquivos/biblioteca_cientifica/1175295398_90_0.pdf)>. Acessado em janeiro 2014.

VELHO, F. C. **Nanocápsulas formadas por dispersão aquosa de poliuretano**. Dissertação (Mestre em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Porto Alegre. 2011. 137p. Programa de Pós Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais.

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil.

VERT, M. Polymeric biomaterials: Strategies of the past vs. strategies of the future. **Progress in Polymer Science**, v. 32, p. 755–761, 2007.

XIE, X.; Tao, Q.; Zou, Y.; Zhang, F.; Guo, M.; Wang, Y.; Wang, H.; Zhou, Q.; Yu, S. PLGA nanoparticles improve the oral bioavailability of curcumin in rats: characterizations and mechanisms. **J. Agric. Food Chem.** v. 59, p. 9280–9289, 2011.

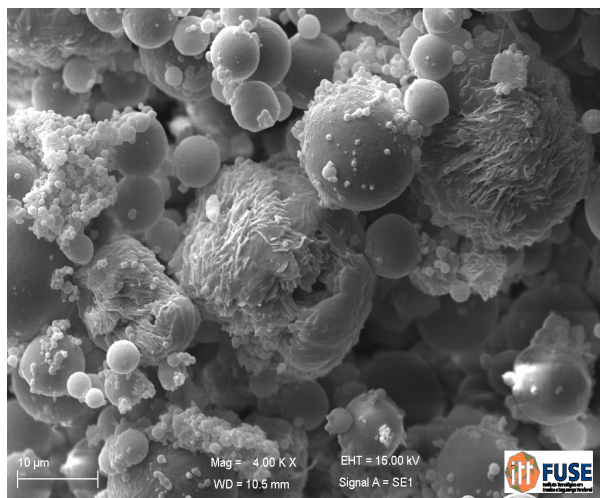
WILLIAMS, D.F. Definitions in biomaterials. **Progress in Biomedical Engineering**, v. 4, p. 72, 1987.

ZARAGOZA, M. L. Z., Silva E. M.; Del Real, A. L.; Cortez E. G.; Villegas, M. A. C.; Guerrero, D. Q. The effect of nano-coatings with  $\alpha$ -tocopherol and xanthan gum on shelf-life and browning index of fresh-cut “Red Delicious” apples. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. and p. no informed, 9p.2013.

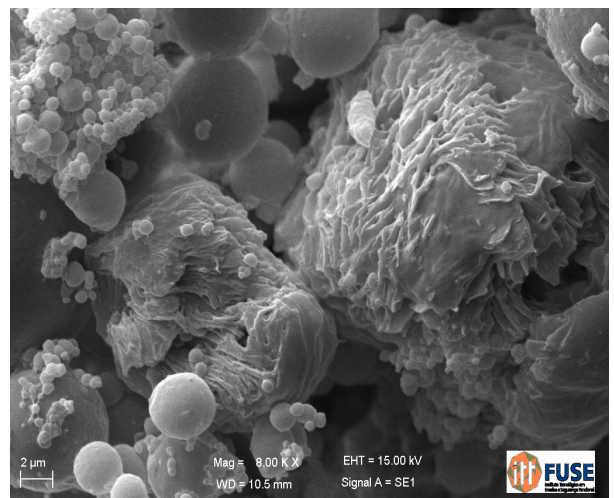
ZHOU, L.; Liang, D.; He, X.; Li, J.; Tan, H.; Li, J.; Fu, Q.; Gu, Q. The degradation and biocompatibility of pH-sensitive biodegradable polyurethanes for intracellular multifunctional antitumor drug delivery. **Biomaterials**. v. 33. p. 2734-2745. 2012.

**A NEXO A**

Micrografia da amostra SM C/ÓLEO 25  
dias 4000x



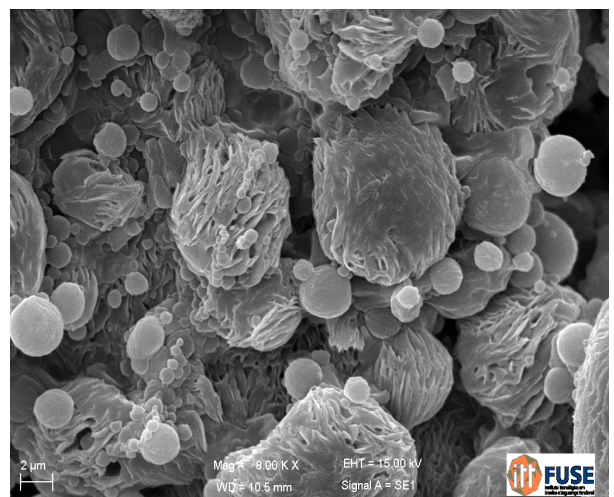
Micrografia da amostra SM C/ÓLEO 25  
dias 8000x

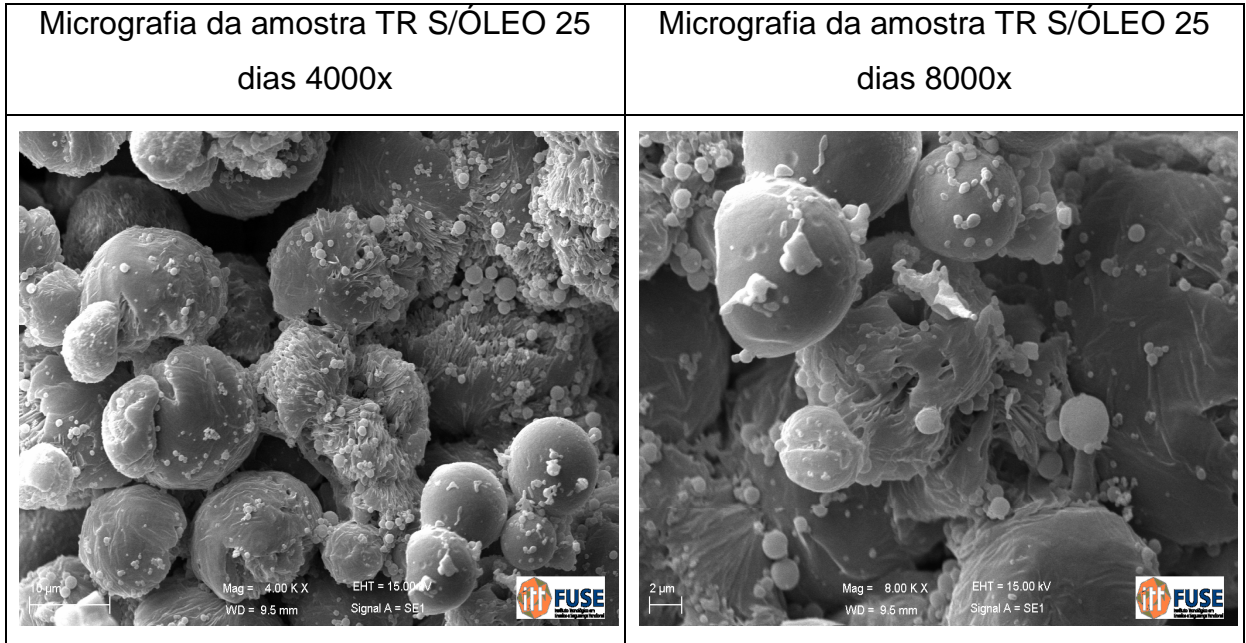


Micrografia da amostra SM S/ÓLEO 25  
dias 4000x

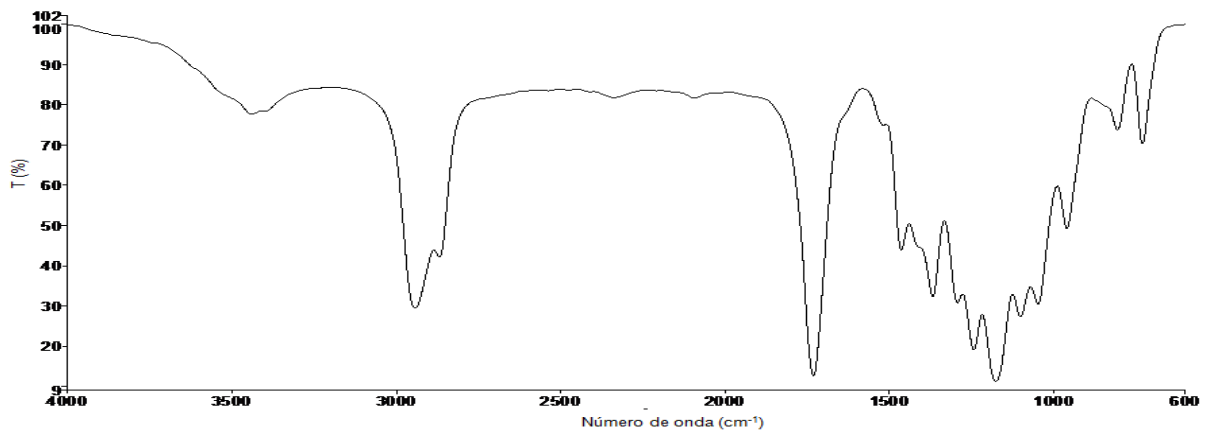


Micrografia da amostra SM S/ÓLEO 25  
dias 8000x

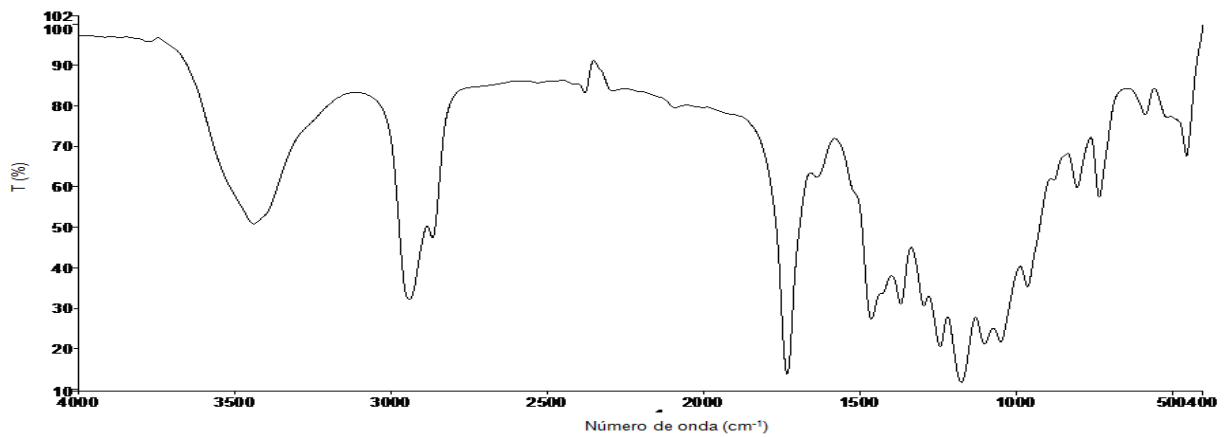




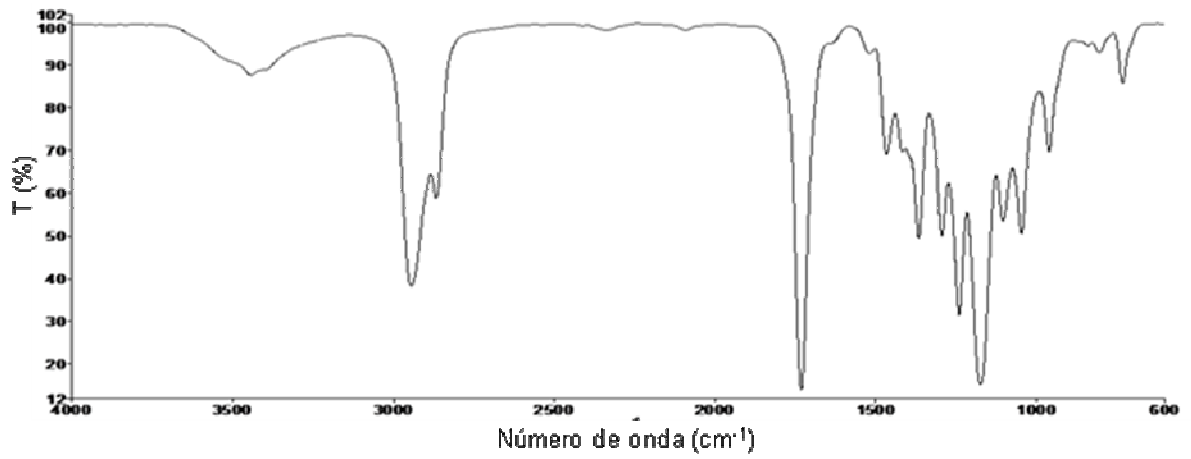
Infravermelho amostra SM C/ÓLEO 4 dias



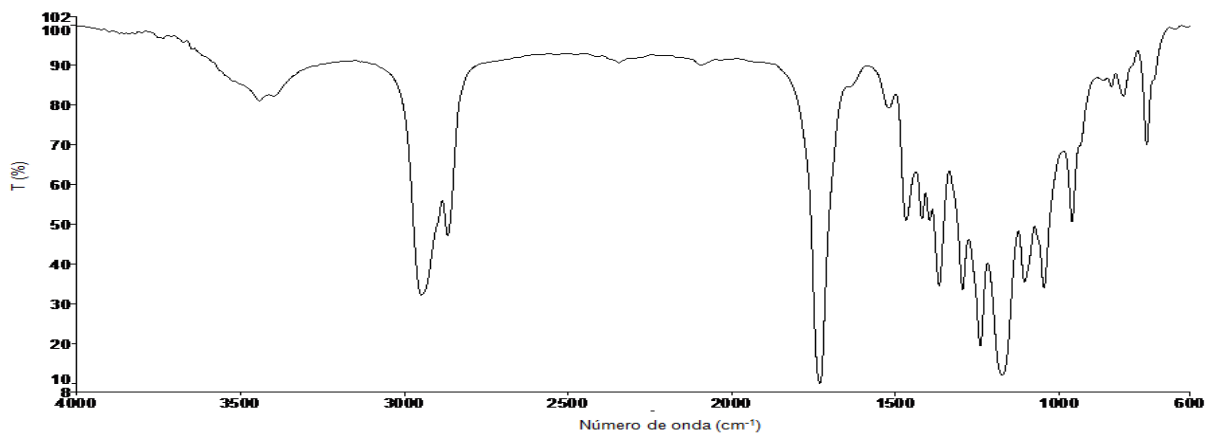
Infravermelho amostra SM C/ÓLEO 10 dias



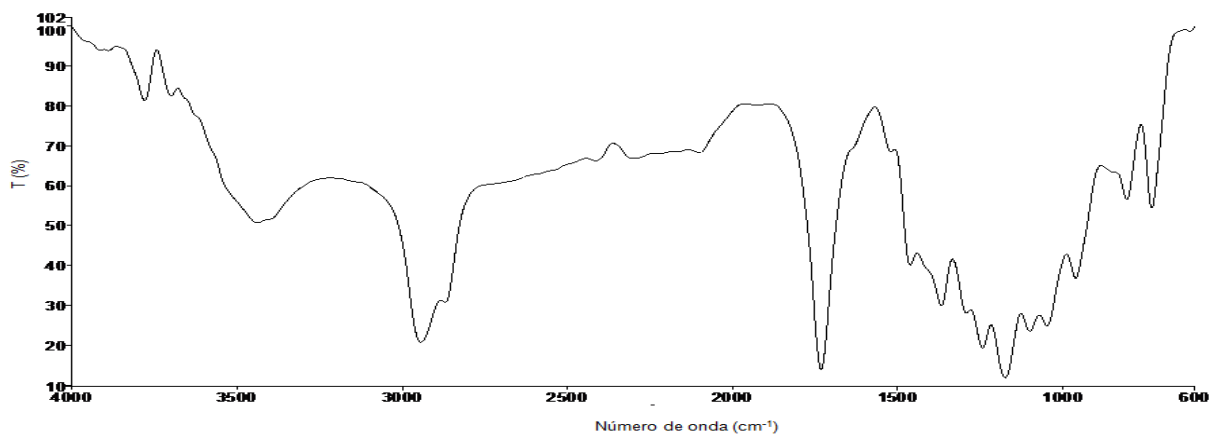
Infravermelho amostra SM C/ÓLEO 25 dias



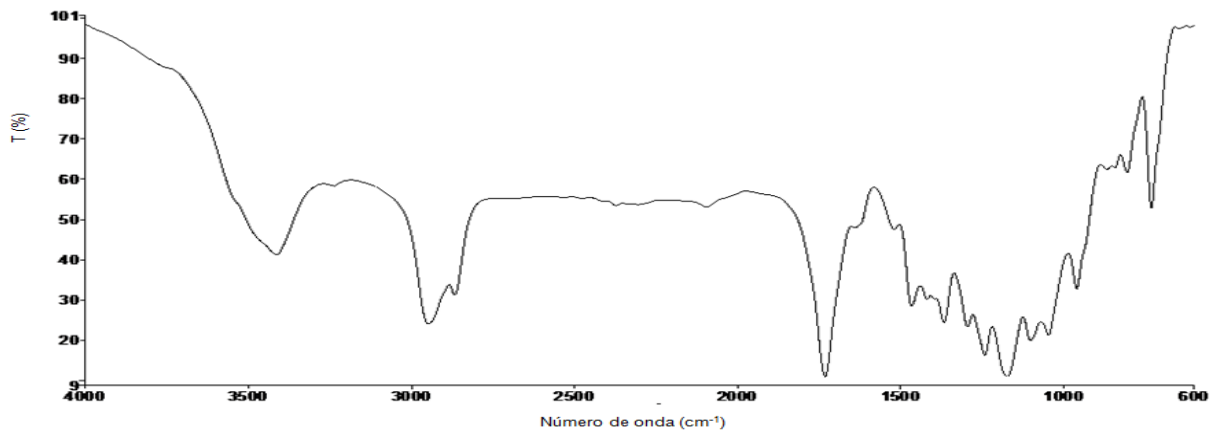
Infravermelho amostra SM S/ÓLEO 4 dias



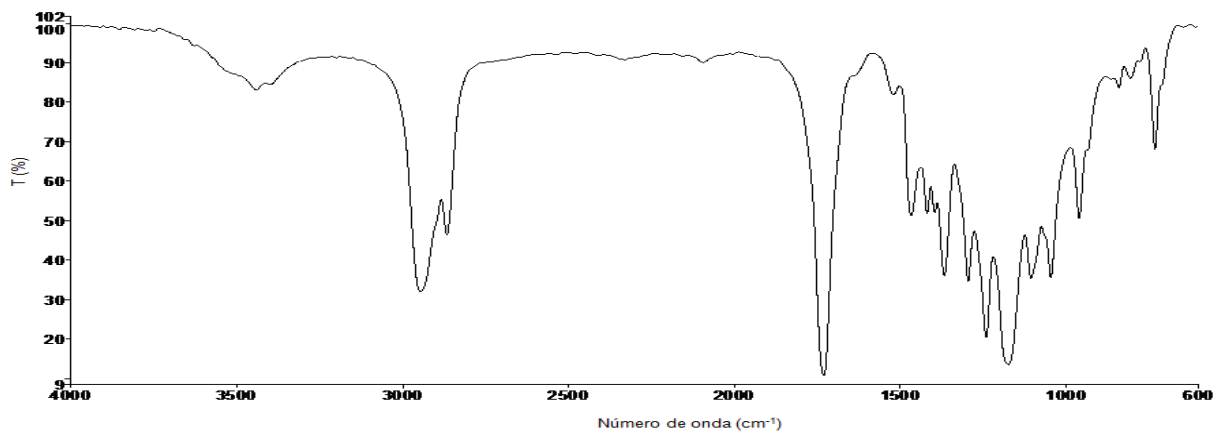
Infravermelho amostra SM S/ÓLEO 10 dias



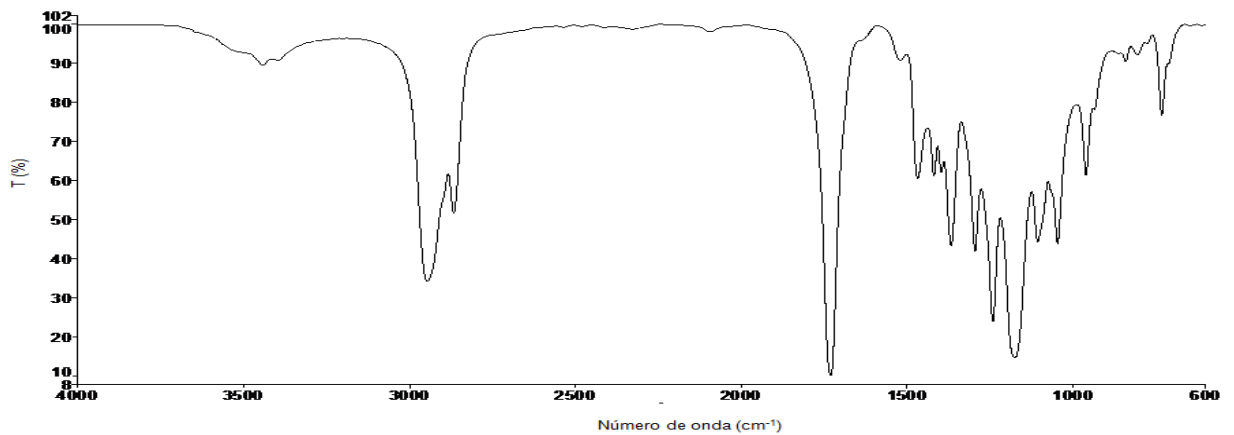
Infravermelho amostra SM S/ÓLEO 25 dias



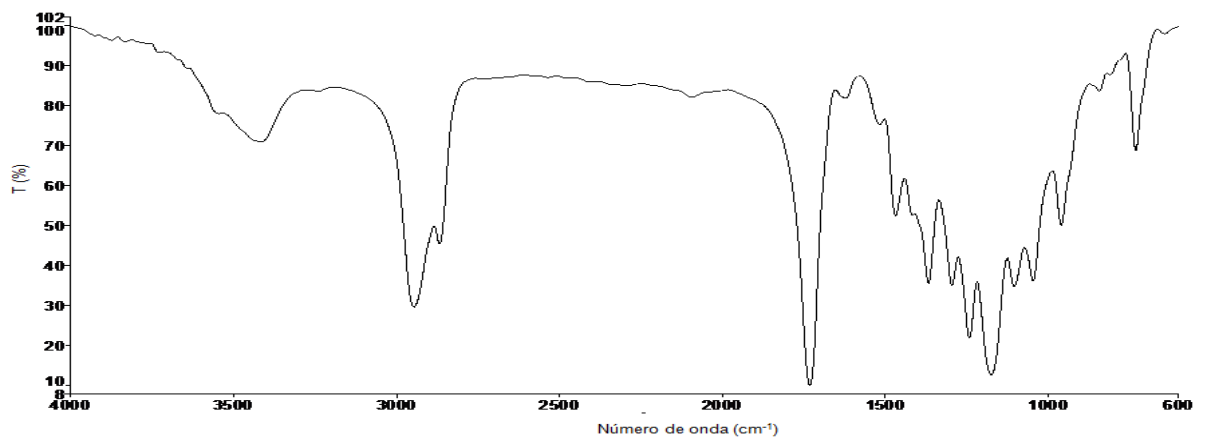
Infravermelho amostra TR C/ÓLEO 4 dias



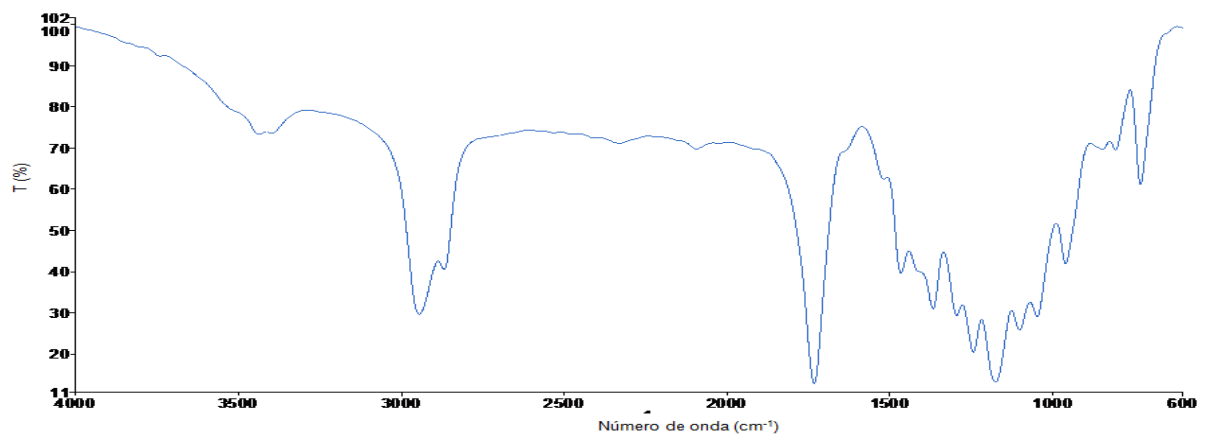
Infravermelho amostra TR C/ÓLEO 10 dias



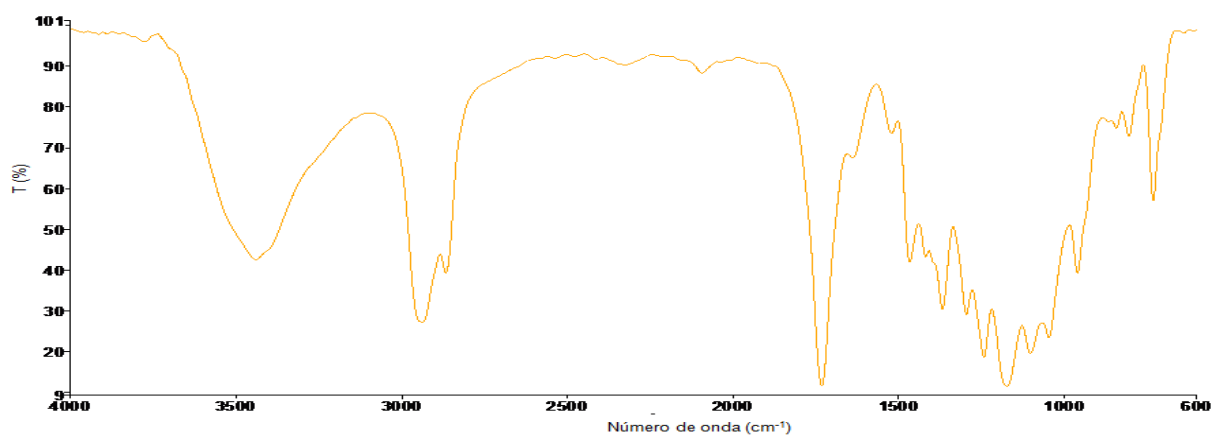
Infravermelho amostra TR C/ÓLEO 25 dias



Infravermelho amostra TR S/ÓLEO 4 dias

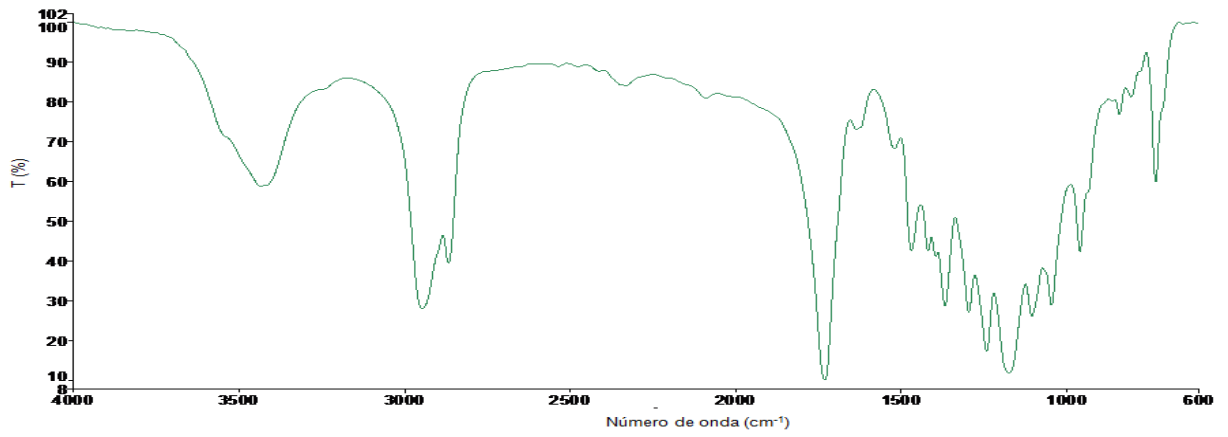


Infravermelho amostra TR S/ÓLEO 10 dias

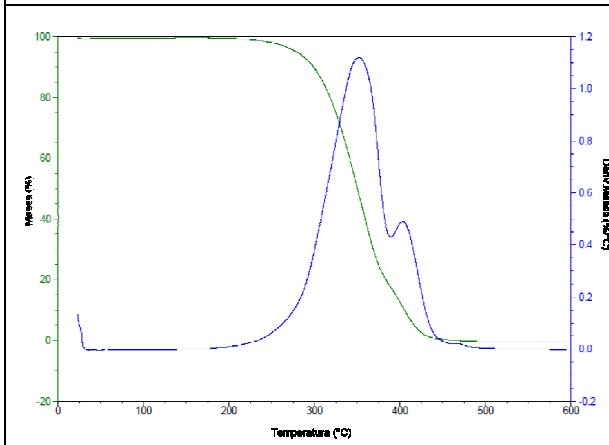




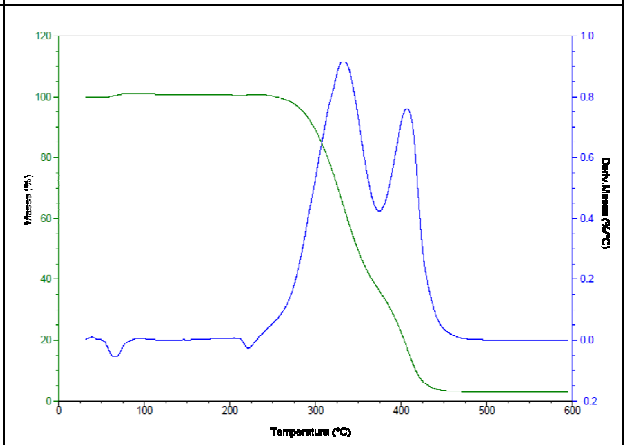
Infravermelho amostra TR S/ÓLEO 25 dias



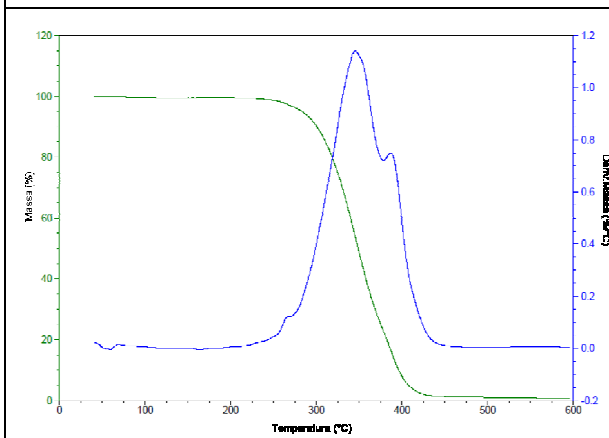
Termograma amostra TR S/ÓLEO orig.



Termograma amostra TR S/ÓLEO 4 dias



Termograma amostra TR S/ÓLEO 6 dias



Termograma amostra TR S/ÓLEO 10 dias

