

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

MARCOS RODRIGO TRACZYNSKI

Desenvolvimento e avaliação de nanopartículas poliméricas de poli (metil metacrilato) (PMMA) como um sistema de liberação modificada

MARCOS RODRIGO TRACZYNSKI

Desenvolvimento e avaliação de nanopartículas poliméricas de poli (metil metacrilato) (PMMA) como um sistema de liberação modificada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de concentração: Produção Vegetal

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Cardozo Filho

Co-Orientador: Prof. Dr. Willyan Machado Giufrida

**Maringá**  
**2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

T759d Traczynski, Marcos Rodrigo  
Desenvolvimento e avaliação de nanopartículas poliméricas de poli (metil metacrilato) (PMMA) como sistema de liberação modificada / Marcos Rodrigo Traczynski -- Maringá, 2016.  
79 f. : il., color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Cardozo Filho.  
Co-orientador: Prof. Dr. Willyan Machado Giufrida.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal, 2016.

1. Nanotecnologia. 2. Nanopartículas poliméricas. 3. PMMA - Poli metil metacrilato. 4. FSC - Fluidos supercríticos. I. Cardozo Filho, Lúcio, orient. II. Giufrida, Willyan Machado, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal. IV. Título.

CDD 21.ed. 543.08  
AHS-002861

# FOLHA DE APROVAÇÃO

MARCOS RODRIGO TRACZYNSKI

Desenvolvimento e avaliação de nanopartículas poliméricas de poli (metil metacrilato) (PMMA) como um sistema de liberação modificada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Lúcio Cardozo Filho

Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof. Dr. Willyan Machado Giufrida

Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Adriano Valim Reis

Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. José Rodrigo Valim Pimentel

Universidade de São Paulo - USP

Aprovada em: 29 de fevereiro de 2016.

Local de defesa: Bloco J45, anfiteatro II, campus da Universidade Estadual de Maringá.

**Maringá**  
**2016**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela força e saúde que Ele me concedeu durante esses anos da minha vida, para vencer obstáculos e presenciar muitas alegrias, por sempre ter colocado pessoas boas e sabias em meu caminho.

A minha querida esposa, Angélica, por ser tão importante na minha vida. Sempre ao meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Devido a seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado

Aos meus pais Pedro e Dirce pelo exemplo de superação, dedicação, que foram o alicerce de tudo que sou hoje, ao meu irmão Rafael e minha cunhada Pamela pelo amor e atenção, por sempre estarem ao meu lado.

Ao Prof. Dr. Lucio Cardozo Filho, pelo exemplo de profissionalismo, meus agradecimentos pela oportunidade, acolhimento e ensinamentos de vida a serem seguidos.

Ao Prof. Dr. Willyan Machado Giufrida, pela co-orientação por seu apoio e amizade dedicação e competência, sugestões, fatores fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Ao amigo Adriano pelas sabias sugestões, e por toda ajuda prestada.

A amiga Thais pelo apoio e ajuda durante as etapas do PGA.

Ao Prof. Dr. Benedito, por toda a sua atenção e ajuda.

A Doutoranda, Eliana por toda a sua ajuda na execução das análises.

Aos amigos de laboratório, Rogério, Daniel, Leandro, Jéssica, Andréia pelo companheirismo e momentos descontraídos.

A Secretária do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Érika Cristina Takamizawa Sato e ao Reinaldo Bernardo, que sempre foram muito prestativos.

As Técnicas da Com-Cap, Suzana e Andresa pelas imagens MEV, MET e auxílio.

A Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade. A CAPES pelo apoio financeiro.

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

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo a produção de micro e nanopartículas a base de poli(metil metacrilato) (PMMA) para a encapsulação e liberação modificada de substâncias ativas, com um potencial a ser aplicado nos setores agrícola, alimentício e farmacêutico. As nanopartículas obtidas foram produzidas por duas técnicas distintas: técnica de emulsão simples com evaporação de solvente e a técnica utilizando fluido Supercrítico (FSC) via SAS (supercrítico antissolvente). O tamanho das partículas obtidas de ambos os métodos, foram avaliadas por meio da técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), e as características morfológicas das partículas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Um estudo de degradação térmica foi realizado utilizando os métodos analíticos de Varredura Diferencial de Calorimetria (DSC) e Termogravimétrica (TGA) com o intuito de determinar se as condições utilizadas durante a produção das nanopartículas não alteravam as propriedades térmicas do PMMA. Para fins de determinação da integridade química do PMMA após processo de produção de partículas e encapsulamento de P4, foi utilizado a análise Espectroscopia em Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR). Além da avaliação do PMMA nas partículas, a análise por FT-IR possibilitou investigar se as moléculas de P4 foram incorporadas nas matrizes poliméricas. Com o objetivo de avaliar o potencial de eficiência de encapsulamento e capacidade de liberação modificada das matrizes de PMMA produzidas, P4 foi incorporada no interior da matriz como substância modelo, e posteriormente realizado estudos para a determinação do percentual de encapsulamento obtido em termos de eficiência de encapsulamento (EE%) e a determinação da cinética de liberação em função do tempo de liberação da substância modelo em meio *in vitro*. Conforme os resultados obtidos no estudo inicial de liberação a micro e nanopartículas demonstram excelente potencial para serem utilizadas como sistemas de liberação modificada de substâncias ativas, como por exemplo, herbicidas, fungicidas e fertilizantes.

**Palavras-Chave:** Nanotecnologia, Nanopartículas poliméricas, Poli (metil- metacrilato) (PMMA), Fluidos supercríticos (FSC).

## ABSTRACT

This work proposes the production of micro and nanoparticles of poly (methyl methacrylate) (PMMA) for the encapsulation and modified release drug delivery system of active substances for the application in the agricultural, food and pharmaceutical. The single emulsion solvent evaporation and supercritical anti-solvent (SAS) methods were used for the production of micro/nanoparticles. The molecule of Progesterone (P4) was used as model active substance due your lipophilic properties. The morphology of the particles was evaluated by dynamic light scattering technique (DLS) and scanning electron microscopy (SEM). The analytical methods of differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric (TGA) were used to evaluate thermal degradation of PMMA micro/nanoparticles. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy was employee to valuation the PMMA chemical degradation and the incorporation of P4 in the matrix PMMA. The encapsulation efficiency was evaluated in absolute ethanol and modified release time of the substance model was evaluation by study in vitro (hydro alcoholic solution, 40% v/v ethanol). The modified release time using the single emulsion solvent evaporation method was superior to SAS process. The preliminary results indicate that methods proposed have application potential to lipophilic molecules system like herbicides, fungicides and fertilizers.

**Keywords:** Nanotechnology, Polymeric nanoparticles, poly (methyl methacrylate) (PMMA), Supercritical fluids (SFC).

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Condições experimentais utilizadas para o preparo das partículas via TES .....	39
<b>Tabela 2</b> - Condições operacionais utilizadas no sistema SAS para produção de nano partículas de PMMA .....	42
<b>Tabela 3</b> – Resultados de tamanho das partículas de PMMA produzidas por técnica de TES e caracterizadas por análise de DLS.....	47
<b>Tabela 4</b> - Resultados de tamanho das amostras de partículas de PMMA produzidas por técnica de SAS e caracterizadas por análise de DLS ou contagem manual via Software.....	50
<b>Tabela 5</b> – Resultados obtidos nos ensaios de EE% .....	65



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) princípio ativo dissolvido .....	3
<b>Figura 2</b> – Escala nanométrica (fonte: <a href="http://asovenac.org/asovenac-2/nanomedicina/">http://asovenac.org/asovenac-2/nanomedicina/</a> ) .....	5
<b>Figura 3</b> – Diferentes tipos de nanocarregadores (adaptado de et al., 2009).....	8
<b>Figura 4</b> - Intercalação de polímero entre partículas inorgânicas (Rosa, 2008).....	15
<b>Figura 5</b> – Esquema do processo de emulsão simples (Giufriada, 2013). .....	18
<b>Figura 6</b> – Esquema do processo de emulsão dupla (Giufriada, 2013).....	19
<b>Figura 7</b> – Diagrama de safes do CO <sub>2</sub> . .....	21
<b>Figura 8</b> - Diagrama esquemático da técnica RESS (Giufriada, 2013). .....	22
<b>Figura 9</b> - Esquema do aparato experimental de produção de partículas por FSC como antisolvente (SAS) (Giufriada, 2013).....	24
<b>Figura 10</b> – Estrutura molecular do PMMA.....	31
<b>Figura 11</b> – Estrutura molecular da progesterona.....	33
<b>Figura 12</b> - Esquema representativo da Emulsão simples/evaporação.....	38
<b>Figura 13</b> - Imagem real do aparato experimental SAS – THAR. ....	40
<b>Figura 14</b> – Esquema do aparato utilizado para realização do estudo de EE%.....	45
<b>Figura 15</b> – Esquema ilustrativo do aparato utilizado para realização dos ensaios de liberação em um sistema “ <i>in vitro</i> ”. .....	46
<b>Figura 16</b> – Gráficos de caracterização de distribuição de tamanho médio obtidos por DLS das amostras de partículas de PMMA produzidas via TES.....	49
<b>Figura 17</b> – Gráficos de caracterização de distribuição de tamanho médio obtidos por contagem manual para amostras de partículas de PMMA: .....	51
<b>Figura 18</b> – Imagens obtidas via MEV com mag. x 12000 das partículas de PMMA produzidas por TES da amostra de condição N° 2. ....	52
<b>Figura 19</b> – Imagens obtidas via MEV com mag. x 12000 e x 27000 das partículas de PMMA produzidas por TES da amostra de condição N° 7. ....	53
<b>Figura 20</b> – Imagens obtidas via MET das partículas de PMMA produzidas por TES da amostra de condição N° 7. ....	54
<b>Figura 21</b> - Imagens obtidas via MEV com mag. x 5000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 1 .....	55

<b>Figura 22</b> - Imagens obtidas via MEV com mag. x 5000, x 2500 e x 1000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 2 Imagens MEV .....	55
<b>Figura 23</b> - Imagens obtidas via MEV com mag. x 2500 e x 5000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 3 .....	56
<b>Figura 24</b> - Imagens obtidas via MEV com mag. x 5000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 5 .....	57
<b>Figura 25</b> - Imagens obtidas via MEV com mag. x 10000 e x 5000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 6.....	57
<b>Figura 26</b> - Imagens obtidas via MET das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 17.....	58
<b>Figura 27</b> – Curvas de DSC obtidas a partir do PMMA, PMMA-SAS e PMMA-TES.....	60
<b>Figura 28</b> – Dados das análises termogravimétricas do PMMA e das partículas de PMMA-SAS-P4 e PMMA-TES-P4.....	60
<b>Figura 29</b> - Curvas de dTG para amostras de PMMA, partículas de PMMA-SAS e PMMA-TES .....	61
<b>Figura 30</b> – Espectros de FT-IR da P4, do PMMA e das partículas de PMMA-SAS e PMMA-SAS-P4.....	62
<b>Figura 31</b> - Espectros de FT-IR da P4, do PMMA e das partículas de PMMA-TES e PMMA-TES-P4.....	62
<b>Figura 32</b> - Espectros de FT-IR do PVA, PMMA e das partículas de PMMA-TES. Banda alargada na região de 3500 a 3200 cm <sup>-1</sup> foram atribuída à vibrações de grupo O-H de alcoóis.....	63
<b>Figura 33</b> - Esquemas das estruturas químicas do P4, PMMA e PVA.....	63
<b>Figura 34</b> – Determinação do potencial zeta de partículas de PMMA produzidas via SAS .....	64
<b>Figura 35</b> - Curva de calibração de P4 em solução Etanol.....	65
<b>Figura 36</b> - Curva de calibração de P4 em solução Etanol.....	66
<b>Figura 37</b> – Cinética de liberação <i>in vitro</i> das partículas PMMA-TES-P4 e meio hidroalcoólico.....	67
<b>Figura 38</b> – Cinética de liberação <i>in vitro</i> das partículas PMMA-SAS-P4 e meio hidroalcoólico.....	68

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. NANOTECNOLOGIA .....	5
2.1. Nanopartículas Poliméricas .....	7
2.2. Aplicação da nanotecnologia.....	9
2.2.1. Saúde .....	9
2.2.2. Conservação Ambiental .....	10
2.2.3. Alimentos .....	10
2.2.3. Agricultura.....	11
2.2.4. Cenário do desenvolvimento da nanotecnologia na área agrícola .....	12
2.2.5. Nanosensores.....	12
2.2.6. Sistemas de transporte de substâncias. ....	13
2.3. Técnicas de Produção de Micro e Nanopartículas. ....	14
2.3.1. Tipos de técnicas para produção de Micro e Nanopartículas.....	15
2.3.2. O processo de polimerização em Emulsão.....	16
2.3.3. Emulsão .....	17
2.3.4. A tecnologia de fluido supercrítico. ....	19
2.3.5. Técnicas de Expansão em FSC .....	21
2.4. Polímeros.....	25
2.4.1. Aspectos Gerais .....	28
2.4.2. Polímeros Biodegradáveis .....	29
2.4.3. Tipos de degradação de polímeros .....	29
2.5. Polimetil-Metacrilato (PMMA).....	31
2.6. Progesterona .....	32
3. OBJETIVOSGERAISEESPECÍFICOS .....	36

4. MATERIAISEMÉTODOS .....	37
4.1. Materiais.....	37
4.2. Métodos .....	37
4.2.1. Produção das partículas pela TES .....	38
4.2.2. Método supercrítico anti-solvente (SAS) .....	40
4.3. Caracterização das amostras.....	42
4.3.1. Análise de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) .....	42
4.3.2. Análises das partículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .	43
4.3.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) .....	43
4.3.5. Análises Térmicas das partículas (DSC e TGA).....	43
4.3.6. Espectroscopia em Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	44
4.3.7. Determinação da Eficiência do Encapsulamento (EE%) .....	44
4.3.8. Determinação da Curva de liberação em meio “ <i>in vitro</i> ” .....	45
5. RESULTADOSEDISCUSSÕES .....	47
5.1. Análise de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) .....	47
5.1.1. Micro e Nanopartículas de PMMA produzidas via técnicas de TES .....	47
5.1.2. Micro e Nanopartículas de PMMA produzidas via técnicas SAS.....	49
5.2. Análises das partículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). .....	52
5.2.1. Micro e Nanopartículas de PMMA produzidas via técnicas de TES .....	52
5.2.2. Micro e Nanopartículas de PMMA produzidas via técnicas SAS.....	54
5.3. Análises térmicas das partículas (DSC e TGA) .....	59
5.4. Análises das partículas por espectroscopia no infravermelho (FT-IR) .....	61
5.5. Análise de Potencial Zeta .....	64
5.6. Avaliação da Eficiência do Encapsulamento (EE%) .....	65
5.7. Estudos “ <i>in vitro</i> ” da liberação da P4a partir das partículas de PMMA.....	66
6. CONCLUSÕES .....	70

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	73

## 1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma das grandes inovações desse século e vem revolucionando a área da física, química, eletrônica e, mais recentemente, a área biológica. A nanotecnologia pode ser definida como a aplicação do conhecimento científico em trabalhos associados à nanoescala (1 nm a 1000 nm), para se entender, criar, caracterizar e manipular estruturas e sistemas que apresentem novas propriedades derivadas de suas nanoestruturas. As técnicas empregadas na nanotecnologia permitem imitar a natureza tanto na montagem de moléculas (*bottom-up*) para formar novos compostos químicos ou nanoestruturas, quanto na desmontagem de produtos macro ou microscópicos (*top-down*) até o nível nanométrico (Roco, 2003).

As aplicações da nanotecnologia estão sendo bastante desenvolvidas nos setores de alta tecnologia computacional e na medicina (Furlaneto, 2011). No campo da agricultura, a fim de maximizar a produção, o setor agrícola intensificou o uso de agrotóxicos gerando grandes problemas de contaminação ambiental, bem como riscos para a saúde humana. Neste contexto uma das principais aplicações da nanotecnologia é o desenvolvimento de nanoformulações, as quais diminuem a quantidade de agroquímicos utilizados e aumentam a eficácia quando comparada às formulações convencionais, possibilitando uma maior produtividade com menor impacto ambiental. No cenário da agricultura as aplicabilidades da nanotecnologia não se limitam apenas ao uso dos agrotóxicos, devido à versatilidade desta tecnologia, estes podem ser utilizados para o aumento do tempo de prateleira de alimentos perecíveis, através da utilização de nanofilmes biodegradáveis e, em alguns casos, estes revestimentos podem ser até comestíveis, sendo utilizados diretamente sobre o alimento, garantindo qualidade e boa aparência por um maior período de tempo (Fraceto et al., 2015).

Cabe ressaltar que o controle e a compreensão dos processos que ocorrem em escala nanométrica são ainda incipientes e demandarão grandes esforços e pesquisas continuadas para que o domínio dessa ciência seja pleno. Contudo, é principalmente nos países em desenvolvimento que a aplicação das nanotecnologias trará os maiores impactos (Assis et al., 2015).

No mês de Abril de 2005, o site BBC News veiculou o artigo denominado “*Nanotech Promise for Global Poor*” no qual destaca resultado de um painel realizado com 63 especialistas mundiais, que identificam para o *JBC – Canadian Joint Centre for Bioethics*, as áreas mais promissoras da nanotecnologia. No painel a seguir, uma das áreas que poderá sofrer um grande impacto da nanotecnologia é a agricultura (Alves, 2005).

---

#### “Os dez Mais” Usos da Nanotecnologia

---

1. Armazenamento, produção e conversão de Energias;
  2. Incremento da produtividade da agricultura;
  3. Tratamento de água e remediação ambiental;
  4. Diagnóstico e *screening* de doenças;
  5. Sistemas de liberação de drogas e agentes ativos (drug delivery);
  6. Processamento, armazenamento e conservação de alimentos;
  7. Poluição do ar e remediação atmosférica;
  8. Construção e desenvolvimento de novos materiais/bioproductos;
  9. Monitoramento da saúde;
  10. Vetores, detecção e controles de pragas.
- 

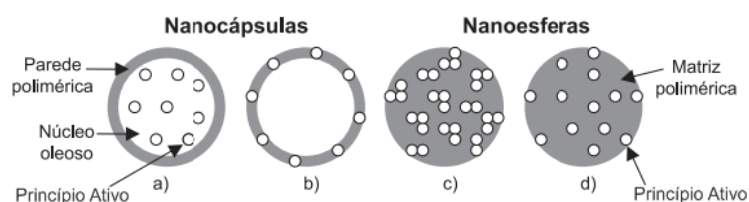
Fonte: Alves, 2005.

Pesquisas tem tido como foco polímeros biodegradáveis, principalmente devido à sua estrutura química flexível e versatilidade dentro de vários campos, como a agricultura, embalagem ou dispositivos biomédicos (Abdelrasoul et al., 2015), pode ser usado como parâmetro para controlar a taxa de liberação e a interação das partículas com o ambiente fisiológico, com escala nanométrica e de elevada área superficial que proporciona uma força motriz importante para a difusão do agente terapêutico (Guilherme et al., 2014).

Ao longo dos últimos anos, tem sido estudada uma vasta variedade de princípios biofarmacêuticos que, quando aplicados com base na farmacocinética, permitem o desenvolvimento de formulações com maior eficácia e facilidade de administração. Na medicina veterinária existe uma diversidade enorme de espécies com diferentes tamanhos corporais, com barreiras de absorção de fármacos distintas e que geralmente requerem terapias com uma longa duração de ação e com poucas administrações (Barbosa, 2010).

Como as nanopartículas dispõem de alta área superficial específica, a dispersão uniforme numa matriz resulta em grande área interfacial entre ambos os componentes, alterando a mobilidade molecular e as propriedades térmicas e mecânicas do material

(Azeredo, 2012). Nanopartículas poliméricas podem apresentar-se na forma de nanocápsulas ou nanoesferas. As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, podendo o fármaco estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica. As nanoesferas não contêm óleo na sua formulação, mas são formadas por uma matriz polimérica, onde o princípio ativo pode ficar adsorvido ou absorvido (Souto et al., 2012).



**Figura 1.** Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) princípio ativo dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) princípio ativo adsorvido à parede polimérica das nanocápsulas; c) princípio ativo na matriz polimérica das nanoesferas; d) princípio ativo ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas (Schaffazick et al., 2003).

As propriedades de um nanocompósito são em grande parte medida e determinadas pela matriz que, neste caso particular, é um material polimérico. Entre os polímeros mais usados na preparação de nanocompósitos destacam-se as poli(olefinas), os poli(ésteres) insaturados, as resinas epóxi, as poli(amidas) e poli(imidas) (Esteves et al., 2004). Existem vários métodos relatados na literatura para a preparação de nanopartículas poliméricas, os quais podem ser, de uma forma geral, classificados em métodos baseados na polimerização *in situ* de monômeros dispersos (cianoacrilato de alquila) ou na precipitação de polímeros pré-formados, tais como poli(ácido lático) (PLA), poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA), poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) e, ainda, os copolímeros do ácido metacrílico e de um éster acrílico ou metacrílico (Schaffazick et al., 2003).

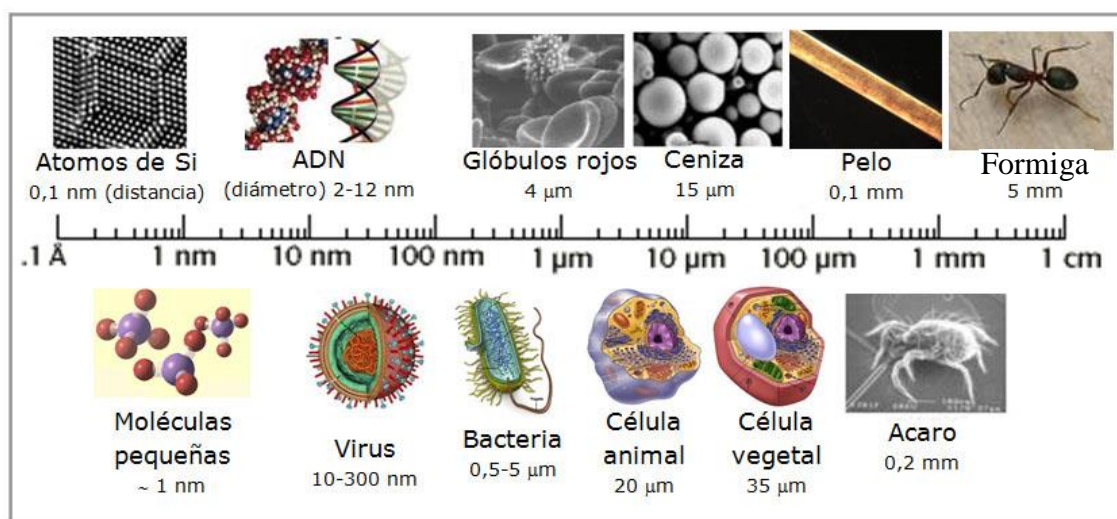
O foco deste trabalho é desenvolver matrizes poliméricas de poli (metil metacrilato) (PMMA) em escalas nanométricas carregadas de progesterona (P4) para promover um sistema de liberação modificada deste princípio ativo, usando tecnologia e fluido supercrítico (FSC) para a produção das nanopartículas poliméricas. Há um interesse crescente no uso do (PMMA) como dispositivo de liberação modificada de ativos (Shaked et al., 2014). PMMA é um termoplástico transparente com um grande número de



aplicações tecnológicas em diversas áreas, possui estabilidade térmica e degradação sob atmosferas inertes e oxidantes, e têm recebido uma atenção considerável na produção de micro e nanopartículas (Gaspar et al., 2015). FSC têm sido frequentemente utilizados como alternativa aos processos tradicionais em diferentes ramos industriais, em particular para obter o controle de tamanho e distribuição de tamanho de micro e nanopartículas de diversos materiais (De Marco et al., 2015). Dióxido de carbono supercrítico (CO<sub>2</sub>SC) tem muitas propriedades distintivas, incluindo excelente capacidade de transferência de massa, difusividade do gás e viscosidade extremamente baixa, de modo a ser aplicável a dispersão uniforme de nanopartículas de materiais com alta tensão superficial (Meng et al., 2015). Outras vantagens são o modo de operação em temperaturas moderadas em uma atmosfera inerte, evitando assim a degradação do produto, e a possibilidade de ajustar as propriedades do fluido com as mudanças de temperatura e pressão, que nos permite controlar o tamanho de partícula e/ou morfologia (Zahran et al., 2015). O método antissolvente supercrítico (SAS) baseia-se relativamente no baixo poder do solvente de CO<sub>2</sub> para solutos, tais como polímeros e produtos farmacêuticos e a sua boa miscibilidade com diversos solventes orgânicos. Contudo, nanopartículas de PMMA+P4 foram produzidas no método SAS em condições específicas de pressão e temperatura, e posteriormente foi realizado teste de eficiência de encapsulamento (EE%) e cinética de liberação em meio *in vitro*.

## 2. NANOTECNOLOGIA

A nanotecnologia é o campo da ciência que estuda a manipulação de átomos e moléculas para produção de materiais, nanoestruturados e micro-objetos, esta baseada na crescente capacidade da tecnologia moderna de produção de partículas em escalas manométrica, com aplicações em diversas áreas de atuação, desde a medicina, meio ambiente e agricultura (Bastos, 2006). Em termos gerais, uma partícula é considerada nanométrica quando apresenta um tamanho inferior a 100 nm (1 nm corresponde a bilionésima parte do metro), (Figura 2), no entanto, para aplicações farmacêuticas ou biomédicas, a faixa de tamanho adotada é de 5–1000 nm dependendo dos materiais selecionados e da aplicação destinada (Faraji et al., 2009; Hamidi et al., 2008). Nessa escala de tamanho, os materiais apresentam novas propriedades antes não observadas quando em tamanho micro ou macroscópico, por exemplo, a tolerância à temperatura, a variedade de cores, as alterações da reatividade química e a condutividade elétrica, e principalmente o aumento da biodisponibilidade dos materiais em decorrência do aumento da área superficial de contato destes com o meio. Assim, tem sido criados nanocristais, nanopartículas, nanofios, nanofitas, nanotubos e nanocompósitos, que despertam o interesse em várias aplicações tecnológicas (Ferreira et al., 2009).



**Figura 2** – Escala nanométrica (fonte: <http://asovenac.org/asovenac-2/nanomedicina/>).

Aplicação da nanotecnologia no setor agroalimentar é um dos campos de mais rápido crescimento em nano-investigação. O aumento no número de publicações, patentes e direitos de propriedade intelectual no campo da nano-agro-alimentar e as tendências recentes da pesquisa em processamento de alimentos, embalagem, entrega de nutracêuticos, controle de qualidade e de alimentos funcionais é por si só uma evidência da afirmação acima. Organizações governamentais, cientistas, inventores, bem como indústrias estão chegando com novas técnicas, protocolos e produtos que têm uma aplicação direta da nanotecnologia na agricultura e produtos alimentares (Nandita et al., 2015).

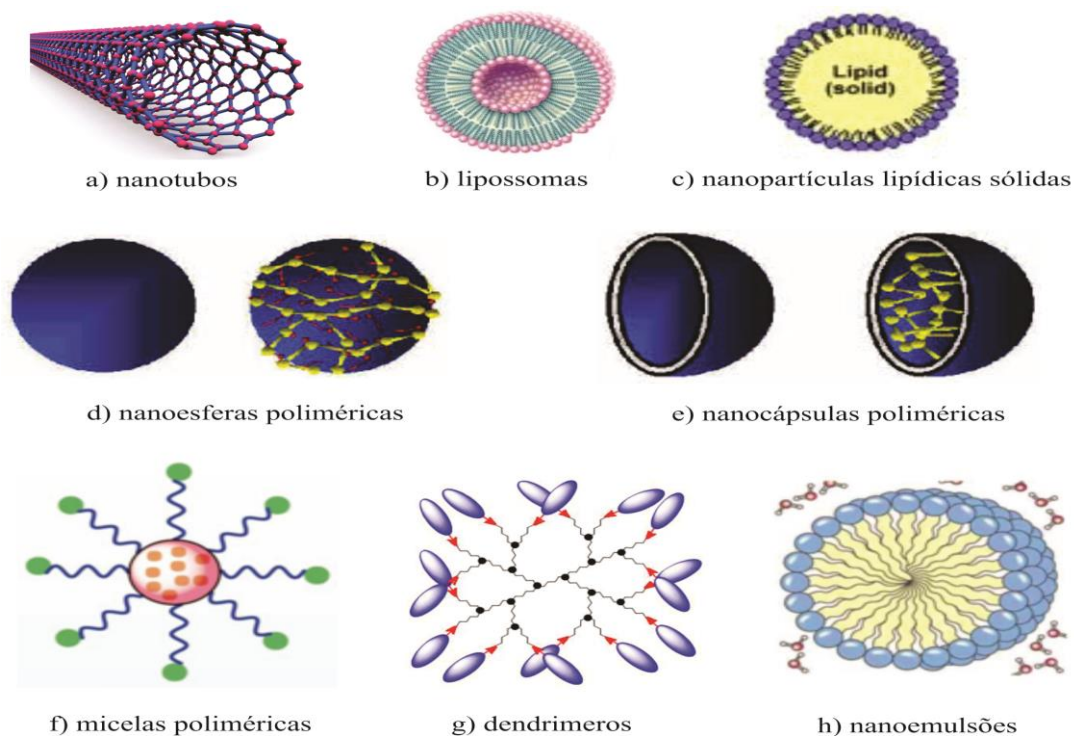
O ramo da nanotecnologia pode ser considerado como um conjunto de ações de pesquisa, desenvolvimento e inovação que são obtidas graças às propriedades especiais da matéria organizada a partir de estruturas de dimensões nanométricas. Esta tecnologia vem despertando muito interesse nas comunidades científicas e a o longo das últimas décadas, muitos esforços foram feitos no sentido de atingir o tão desejado controle em nível atômico e molecular sobre os processos industriais. Ressalta-se que atualmente a nanotecnologia é um dos principais focos das atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação em todos os países industrializados (Piscopo et al., 2013).

Atualmente, muitos investimentos vêm sendo aplicados para o desenvolvimento e aprimoramento da nanotecnologia. A utilização comercial atinge, principalmente, os ramos da engenharia de produtos eletrônicos, da indústria automobilística, da construção civil, dos cosméticos, de roupas e artigos esportivos. Além disso, pesquisas envolvendo a aplicação da nanotecnologia na biomedicina apresentam resultados promissores principalmente em técnicas de vetorização de fármacos, diagnóstico precoce de doenças, tratamento de câncer e isolamento celular (Caldeira, 2011).

Existem basicamente três tipos de nanocompósitos: orgânico-orgânico, inorgânico-inorgânico e orgânico-inorgânico ou híbrido. Nanocompósitos orgânico-orgânico são formados por nanocargas orgânicas dispersas em um polímero. Os nanocompósitos do tipo inorgânico-inorgânico são aqueles formados por mistura de um ou mais minerais. Já os nanocompósitos do tipo orgânico-inorgânico são formados a partir de uma matriz polimérica com carga inorgânica nanométrica dispersa. São também chamados de nanocompósitos poliméricos (Meira et al., 2015).

## 2.1. Nanopartículas Poliméricas

As nanopartículas poliméricas são elaboradas a partir de polímeros que podem ter origem natural ou sintética. Além disso, sua principal matéria-prima é de fácil obtenção, os processos de produção são relativamente simples, é possível a utilização de matrizes biocompatíveis e biodegradáveis e há grande variedade de polímeros (Ferreira, 2013). Nanopartículas poliméricas representam uma alternativa tecnológica com excelente biocompatibilidade, não imunogênica, não tóxica e biodegradável. Estes sistemas são transportadores coloidais compostos de polímeros sintéticos ou naturais. Nanopartículas poliméricas são uma classe ampla de nanocarreadores, geralmente classificadas de nano/microesferas ou de nano/microcápsulas (Figura 3). Quando estas partículas são constituídas por uma matriz polimérica maciça, onde o fármaco se encontra uniformemente disperso ou solubilizado, estas são designadas por microesferas ou por nanoesferas. Quando as partículas são sistemas vesiculares, com um core interior constituído pelo fármaco no estado sólido ou líquido envolvido por uma membrana polimérica, estas são designadas por microcápsulas ou por nanocápsulas (Coimbra, 2010).



**Figura 3** – Diferentes tipos de nanocarreadores (adaptado Barbosa et al., 2009)

A mais importante classificação dessas nanopartículas consiste em separá-las em dois grandes grupos: os sistemas vesiculares (nanocápsulas) e os matriciais (nanoesferas) (Schaffazick et al., 2003). Diversos polímeros naturais como gelatina, alginato e albumina são utilizados para preparar as nanopartículas, no entanto, eles têm desvantagens, como a difícil reprodutibilidade lote a lote. Por sua vez, a maioria dos polímeros sintéticos são poliésteres alifáticos derivados dos ácidos acrílicos e metacrílico ou derivados de cianoacrilato de alquila (Frantiescoli et al., 2013).

As nanopartículas poliméricas têm uma gama de aplicações, na área médica são empregadas como veículos de fármacos, proteínas e antigênicos para administração injetável, oral, tópico, sistemas bioadesivos, e como o principal componente de sistemas de liberação controlada na forma de implante (Souto et al., 2012). Já na indústria de alimentos as nanopartículas são utilizadas como transportadores poliméricos que oferecem vantagens, incluindo alterações nos perfis de liberação de compostos bioativos e a sua transferência para o local de ação, reduzem às perdas devido à lixiviação ou degradação e mantêm as características organolépticas dos alimentos por um maior período de tempo. (Assis et al., 2012). Eles atuam no encapsulamento de odores e sabores, na infusão de esteroides para reposição de colesterol em carnes, agentes antimicrobianos seletivos, dispositivos de embalagens inteligentes, dispersão de nutrientes (Assis et al., 20015). Outra aplicação da nanotecnologia no setor de alimentos é na redução das perdas durante o armazenamento, transporte e distribuição de alimentos frescos, pré- cortados e embalados. Um exemplo disso é o desenvolvimento de embalagens (ativas e inteligentes) que monitoram as condições ambientais através do controle da taxa de respiração dos alimentos, reduzindo o processo de degeneração de produtos perecíveis por ação de microrganismos (Mattoso et al., 2005).

No agronegócio a nanotecnologia tem demonstrado um imenso campo de aplicações, tais como na indústria de insumos (fertilizantes, pesticidas) e medicamentos para uso veterinário, agricultura de precisão, rastreabilidade, indústria de alimentos, certificação e qualidade de produtos agrícolas, segurança alimentar, biotecnologia, agroenergia, monitoramento ambiental, novos usos de produtos agropecuários e vários outros setores da agroindústria (Mattoso et al., 2005). Podem ser utilizados como mecanismos envolvidos na entrega, armazenamento e liberação controlada de produtos,

utilizados no combate de pragas na gestão e proteção das culturas através de uma melhor eficácia dos pesticidas, herbicidas, e outros agroquímicos tais como fertilizantes, hormônios ou agentes de crescimento (Nandita et al., 2015). Sistemas de nanopartículas apresentam elevada eficiência de interação entre os fungicidas e nanopartículas, quando os compostos foram carregados nas nanopartículas os ensaios de citotoxicidade demonstraram que a encapsulação dos fungicidas diminuiu a sua toxicidade (Campos et al., 2015). Outras aplicações agrícolas incluem engenharia genética, identidade de preservação, sensores para monitorar condições de solo, bem como a medicina veterinária (Amenta et al., 2015).

### **2.2. Aplicação da nanotecnologia.**

#### **2.2.1. Saúde**

Com o desenvolvimento de novos materiais biocompatíveis, a nanotecnologia é hoje considerada uma disciplina revolucionária em termos de seu enorme potencial na solução de muitos problemas relacionados à saúde. Estando presentes nas áreas de engenharia de tecidos, sistemas de carregamento e liberação de drogas, no diagnóstico ultrarrápido e sensível usando nanosensores (Rossi-Bergmann et al., 2008). Particularmente na área da nanotecnologia farmacêutica e nanomedicina os esforços em pesquisa e desenvolvimento visam projetar nano medicamentos com vantagens em relação a seus homólogos convencionais, com características relevantes de encapsulação, transporte e liberação controlada de substâncias (Dimer et al., 2013).

Aplicação da nanotecnologia para área médica é bastante promissora. Existem três áreas onde seu desenvolvimento é iminente e já está ocorrendo: terapêutica, diagnóstico e medicina regenerativa. Existem vários métodos terapêuticos que utilizam nanopartículas ou nanodispositivos. Um deles é a entrega de drogas ou a utilização de transportadores, tais como nanopartículas, nanotubos, ou lipossomas para entregar drogas para as células e tecidos afetados. A nanotecnologia tem aplicações para diagnóstico in vitro, utilizando como agentes de contraste fluorescentes corantes e nanopartículas magnéticas. Na medicina regenerativa, o desafio é melhorar a regeneração dos tecidos, minimizando as respostas imunes evitarem a ocorrências de infecção. Nanoestruturas regenerativas têm

demonstrado serem eficientes na reconstituição de ossos, cartilagens, tecidos vascular, cardíaco, cerebral e outros tecidos. Para tal fim, onde vários polímeros e ligas de metais são utilizadas de acordo com as suas características de biocompatibilidade para esse fim (Invernizzi et al., 2015).

### **2.2.2. Conservação Ambiental**

Outro setor de destaque da nanotecnologia é na conservação ambiental, onde nanomateriais de fontes renováveis são utilizados na elaboração de processos industriais, como a construção de membranas e filtros, utilizados nos processos de filtração e purificação de água e retenção de microrganismos e na descontaminação de águas residuais. Outro exemplo é uso de nanopartículas de óxido de cério utilizadas para remover partículas de óleo diesel do solo, e das nanopartículas de ferro utilizadas para remover contaminantes do solo e da água (Carniel, 2013).

Os benefícios atribuídos na área de prevenção ambiental podem atuar na redução de agentes causadores de poluição, onde nanomateriais catalíticos são utilizados para aumentar a eficiência e a seletividade de processos industriais, promovendo um maior aproveitamento de matérias primas, com reduzido dispêndio de energia e menor produção de resíduos indesejáveis. Utilização de nanopartículas na adsorção de metais e substâncias orgânicas, aplicação de nanomateriais na descontaminação ambiental é decorrente da alta reatividade química apresentada por estes materiais. Dentro dessas perspectivas, a nanotecnologia se posiciona de maneira prioritária para a revitalização e reabilitação do meio ambiente (Faria et al., 2013).

### **2.2.3. Alimentos**

A aplicação da nanotecnologia nas áreas de alimentos está crescendo rapidamente, estas aplicações incluem a detecção de micro-organismos, proteção ambiental, purificação de água, o encapsulamento de nutrientes. Pesquisas destacam várias aplicações para a nanotecnologia no setor alimentar, tais como na melhoria sensorial (Sabor, realce da cor, modificação de textura), aumento da absorção e distribuição direcionada de nutrientes e compostos bioativos, estabilização de bioativos presentes em nutracêuticos, embalagem e

inovação de produtos para aumentar a vida de prateleira, sensores para avaliar a segurança de alimentos, e agente antimicrobianos (Ranjan et al., 2014).

Os dispositivos nanotecnológicos podem contribuir significativamente na redução de desperdícios de alimentos, o qual é um dos principais problemas no setor de alimentos, pois esses compostos têm a característica de diminuir a liberação de gases dos alimentos perecíveis, prolongando a vida útil de prateleira, podendo ser transportados por distâncias maiores. Sistemas de embalagens inteligentes podem liberar compostos antioxidantes e sabores a medida que for necessário, também podem liberar compostos ativos em resposta ao ataque de agente microbianos. Estas aplicações trazem benefícios aos consumidores, pois com menos desperdícios há uma oferta maior de alimentos no mercado consequentemente diminuindo custos de produção, transporte e armazenamento, fatores que contribuem para diminuição dos preços para os consumidores finais (Carniel, 2013).

### **2.2.3. Agricultura**

Especialistas estimam que a população mundial deva atingir os 7,6 bilhões de habitantes até o ano de 2020. O grande desafio é produzir alimentos suficientes para atender essa demanda de crescimento populacional, visando que novas áreas agricultáveis do planeta estão praticamente extintas. O objetivo é aumentar a produção de alimentos na mesma área já agricultável, enfrentando ameaças ambientais, incluindo as alterações climáticas que afetam a produtividade de alimentos. Assim a comunidade científica trabalha no desenvolvimento e aperfeiçoamento de materiais nanotecnológicos inovadores, que possam auxiliar na produção, processamento e no armazenamento de produtos agrícolas (Helal et al., 2013).

A nanotecnologia pode ser empregada em vários setores da agricultura moderna, podendo ser empregados em nanoformulações de agrotóxicos para a aplicação de pesticidas e fertilizantes, nanodispositivos para a manipulação genética das plantas, descontaminação de solos, na captação e processamento de dados através do uso de nanosensores aplicados a agricultura de precisão para o monitoramento de culturas, encapsulamento e liberação controlada de agroquímicos e no diagnóstico de doenças de plantas. Entre os dispositivos nanotecnológicos agrícolas destacam-se as nanopartículas



poliméricas lipídicas e magnéticas, nanotubos de carbono, hidrogeis, lipossomas (Agrawal et al., 2014).

#### **2.2.4. Cenário do desenvolvimento da nanotecnologia na área agrícola**

A pesquisa em nanotecnologia está atraindo investimentos em grande escala no cenário agrícola, no qual a nanotecnologia já está presente em alguns produtos alimentares, em bebidas e embalagens que incorporam nanotecnologias comercialmente disponíveis em determinados países. Aplicações da nanotecnologia são relevantes para todas as áreas da ciência dos alimentos, incluindo a agricultura, processamento de alimentos, embalagem, segurança, nutrição e nutracêuticos. Prevê-se que a nanotecnologia vai trazer benefícios significativos para a indústria agroalimentar e consumidores, incluindo os métodos de produção de alimentos mais eficiente, o desenvolvimento de alimentos funcionais que oferecem alegações de saúde, aumento da vida de prateleira de produtos alimentares, mais processamento de alimentos higiene e melhoria da rastreabilidade e segurança dos produtos (Handford et al., 2015).

As principais áreas de foco para a nanotecnologia pesquisa agrícola são: A Nano-manipulação genética de culturas agrícolas, diagnósticos agrícolas, entrega controlada e liberação de Nano-fertilizantes, herbicidas, pesticidas e nanocomplexo. Também no desenvolvimento de nano sensores aplicados a agricultura de precisão. O objetivo destas pesquisas envolvendo a nanotecnologia na agricultura é de promover uma agricultura mais produtiva e com menos impactos ambientais, gerando benefícios para a segurança alimentar, potencializando o poder nutritivo dos alimentos (Agrawal et al., 2014).

#### **2.2.5. Nanosensores**

A partir da nanociência, estão sendo desenvolvidos métodos de detecção de contaminantes químicos e biológicos de alta sensibilidade capazes de fornecer resposta da análise em tempo real, tais como os nanosensores, que podem responder às mudanças ambientais (por exemplo, a temperatura ou a umidade nos locais de armazenagem envolvendo moléculas biológicas, são pequenos dispositivos que utilizam reações

biológicas para detecção de substâncias alvo (bactérias, micotoxinas), sendo tais dispositivos combinados a um componente biológico, que interage com um substrato alvo e a um transdutor de sinais que converte os processos de biorreconhecimento em sinais amplificados e mensuráveis. Os dispositivos são pequenos portáteis, de resposta rápida e processamento em tempo real, específico, quantitativo de precisão, confiança, reproduzível, estável e robusto (Gomes et al., 2015).

Nanosensores bioanalíticos são utilizados para detectar e quantificar quantidades diminutas de contaminantes, como bactérias, vírus, toxinas, substâncias biopercigosas na agricultura e em sistemas alimentares. Na indústria alimentar os nanosensores oferecem maior segurança de fabricação, processamento e transporte de produtos alimentares, através de sensores para patógeno e detecção de contaminantes. Na agricultura os nanosensores podem auxiliar no monitoramento das culturas, como na entrega de herbicidas, fungicidas, fertilizantes, identificação de pragas e na determinação do ponto exato de colheita. Os biosensores têm enorme impacto sobre os métodos de agricultura de precisão que estão ligados ao sistema GPS, estes nanosensores podem monitorar solo condições de crescimento da cultura em vastas áreas. Tais sensores já têm sido empregues em EUA e Austrália (Sharon et al., 2010).

#### **2.2.6. Sistemas de transporte de substâncias.**

Entre os avanços da nanotecnologia os nano-transportadores vêm se destacando no transporte e entrega de substâncias de interesse. Estes sistemas inteligentes têm a capacidade de autorregulação na entrega de quantidades precisas de drogas, nutrientes e agroquímicos. Os nanotransportadores são sistemas, desenvolvidos à escala nanométrica (abaixo de 1 $\mu$ m), podendo ser constituídos por diferentes materiais, incluindo materiais biodegradáveis tais como polímeros naturais ou sintéticos, lipídios (como por exemplo, fosfolipídios) e por vezes por compostos organometálicos. Atualmente, existem diferentes tipos de nanotransportadores tais como nanopartículas, complexos lipídicos, dendrímeros e micelas poliméricas, entre outros (Delgado, 2013).

Os nanotransportadores em suas diversas formas têm sido investigados para diversas aplicações industriais, principalmente nos setores de cosméticos, farmacêutico, alimentos, e na agricultura. Esses sistemas de transporte se destacam devido a sua maior

área de contato superficial em relação ao volume de soluções fato que se dá pelo seu tamanho que vai de 10 a 1000 nm. E por possuírem as características de transporte de altas cargas de drogas e pesticidas, alta capacidade de fotoproteção e liberação controlada de drogas e pesticidas encapsulados. Os nanotransportadores podem ser usados para formar formulações pesticidas mais seguros, evitar aplicações repetitivas ou a necessidade de doses mais elevadas, e reduzindo os riscos de contaminação da água e do solo, mantendo o efeito desejado no alvo (Nguyen et al., 2014).

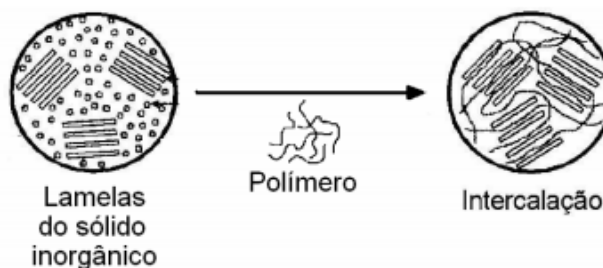
### **2.3. Técnicas de Produção de Micro e Nanopartículas.**

Ciência e tecnologia continuam avançando na fabricação de micro/nano dispositivos e sistemas com possibilidade de aplicação em várias áreas da indústria, comércio e biomedicina (Bastos, 2006). Hoje no mercado, existem vários tipos de processos e ferramentas, já largamente em escala industrial, que possibilitam a utilização da micro/nano manufatura, no entanto, a nanotecnologia é representativa de uma nova geração de processos produtivos cuja amplitude ainda é difícil de prever, e que se apresenta em rápida evolução (Cavalcanti e Soares, 2013).

Muitos métodos têm sido desenvolvidos para a preparação de nanopartículas, estes métodos podem ser, de uma forma geral, classificados em métodos baseados na polimerização *in situ* de monômeros dispersos ou na precipitação de polímeros pré-formados, tais como poli(ácido lático) (PLA), poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA), poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) e, ainda, os copolímeros do ácido metacrílico e de um éster acrílico ou metacrílico. (Schaffazick et al., 2003). Outro método citado na literatura é a intercalação por solução e intercalação por fusão. Esta última é, em geral, a mais utilizada devido ao material ser processado em equipamentos de misturas convencionais, sem uso de solventes, sendo, portanto, melhor para o meio ambiente, as quais podem ser moldadas diretamente em formas específicas para sua aplicação, sem necessidade de processamento adicional (Meira et al., 2015).

O termo intercalação refere-se literalmente ao ato da inserção reversível de espécies denominadas “convidadas”, dentro de uma matriz cristalina, que atua como “hóspede”, cuja estrutura dispõe ainda de uma sequência ordenada de sítios reticulares vazios (Figura 4), a intercalação de polímeros polares entre as lamelas de materiais

inorgânicos é mais fácil de ser obtida do que a intercalação com polímeros apolares, pois os polímeros apolares são bastante hidrofóbicos e não formam interações adequadas com os materiais inorgânicos (Rosa, 2008).



**Figura 4** - Intercalação de polímero entre partículas inorgânicas (Rosa, 2008).

As principais técnicas de preparação das nanopartículas poliméricas são: polimerização *in situ*, polimerização interfacial, nanoprecipitação, deposição interfacial de polímero, emulsificação-difusão, emulsificação-evaporação de solvente, emulsificação-difusão (*salting out*), e ainda coacervação complexa. Recentemente, as nanocápsulas de núcleo lipídico, um tipo híbrido de nanopartícula foram desenvolvidas no Brasil, sendo preparadas por deslocamento de solvente e formadas por auto-organização de seus materiais, lipídicos e poliméricos (Frantiescoli et al., 2013). Outro método que vem despertando o interesse devido as suas vantagens sobre os métodos convencionais é a técnica de expansão em Fluidos Super-Críticos (FSC), devido às condições de processamento leves, a alta difusividade e baixa viscosidade que permite entregar compostos ativos em matrizes poliméricas (Silva et al., 2014).

### 2.3.1. Tipos de técnicas para produção de Micro e Nanopartículas.

Os processos de preparação de micro e nanopartículas devem ser simples, contínuo, eficiente e viável para a larga escala, aceito por autoridades regulatórias, e permitindo quantidades flexíveis de fármacos. Vários processos tal como moagem úmida, homogeneização sob alta pressão, nano precipitação, emulsificação, Congelamento por Atomização em Líquido (SFL- *Spray freezing into liquid*), Precipitação por Evaporação em Solução Aquosa (EPAS –*Evaporative Precipitation into Aqueous Solution*), Precipitação com Anti-Solvente Comprimido (PCA – *Precipitation With a Compressed Anti-Solvent*),

Rápida Expansão de Soluções Supercríticas (RESS – *Rapid Expansion of Supercritical Solutions*), produção de partículas usando fluidos supercrítico são tipos de técnicas utilizadas usados para produção de produzir micro e nanopartículas ( Pimental., 2010).

### 2.3.2. O processo de polimerização em Emulsão

Dispersões poliméricas são úteis para as mais variadas aplicações na área de biomateriais, visando obtenção de materiais para a fabricação de dispositivos médicos e sistemas de liberação de fármacos. Comumente, as dispersões poliméricas podem ser obtidas pela técnica de polimerização em emulsão, empregando diferentes métodos (Villanova, 2011). Para facilitar a manipulação do material polimérico final e a operação do processo de polimerização, processos heterogêneos de polimerização são empregados para a produção de polímero na forma de partículas (como os conhecidos processos de polimerização em emulsão, em dispersão, por precipitação e em suspensão). Cada processo apresenta características peculiares, que permitem produzir resinas com as mais variadas propriedades, visando a diferentes aplicações do material polimérico. Os processos de polimerização em suspensão são apropriados para obtenção de produtos para aplicações biotecnológicas e médicas, como por exemplo, partículas com morfologia controlada para uso em embolização vascular, como suporte para enzimas ou como cimento ósseo para tratamento de osteoporose e em cirurgias dentárias (Machado et al., 2007).

As reações de polimerização são preferencialmente conduzidas em sistemas dispersos (ex. *emulsão*, suspensão, dispersão), o que garante, além de altos rendimentos, fácil recuperação do produto ao final do processo e a possibilidade de obter polímeros com alta massa molar, na forma de partículas sólidas e em alguns casos com morfologia bem definida (Chern et al., 2006). Uma formulação típica de polimerização em emulsão de monómero compreende em uma polimerização em cadeia, na qual a fase monomérica, geralmente constituída por um ou mais monômeros insolúveis em meio aquoso, um meio dispersante, em geral água, um iniciador solúvel na fase aquosa e emulsificantes. A polimerização em emulsão apresenta vantagens em relação aos demais processos de polimerização, tais como controle térmico e o aumento da massa molar das cadeias poliméricas sem reduzir a taxa de polimerização (Pinto et al., 2013).

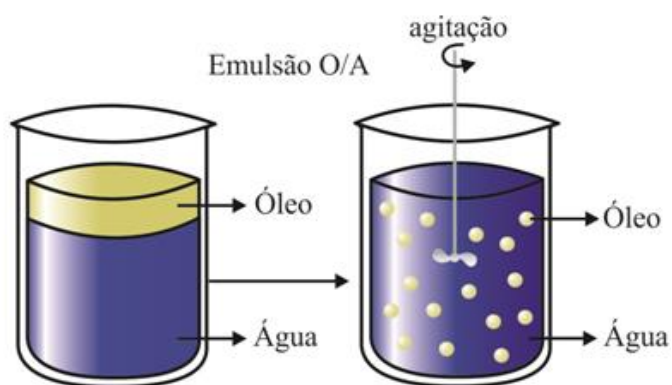
O processo de polimerização em emulsão ocorre nas micelas, que capturam os radicais gerados na fase aquosa. O monômero se difunde das gotas dispersas para o interior das micelas, inchando-as e mantendo a continuidade da polimerização. Após a nucleação, as micelas passam a ser partículas de polímero, que se mantêm inchadas com monômero, dando continuidade à polimerização e ao crescimento da partícula. A cadeia polimérica termina com a entrada de um segundo radical na partícula de polímero. A partícula de polímero sem radical pode ser renucleada muitas vezes ao longo do processo (Asua et al., 2004).

### 2.3.3. Emulsão

As emulsões são sistemas heterogêneos, metaestáveis, formados pela mistura de duas fases imiscíveis, denominadas, contínua e descontínua. Um terceiro componente é adicionado ao sistema para estabilizá-lo, denominado emulsionante (emulsificante ou emulgente) (Villanova, 2011). Podem ser classificadas em emulsão simples, dupla ou tripla, as emulsões simples são classificadas como do tipo óleo em água (O/A) (Figura 5), aquela em que o óleo constitui a fase dispersa e a água a fase contínua, ou podem ser do tipo água em óleo (A/O) onde a água passa a ser a fase dispersa e o óleo a fase contínua. A técnica da emulsão simples baseia-se na homogeneização de duas fases líquidas do tipo O/A, em que o óleo constitui a fase dispersa e a água a fase contínua, ou podem ser do tipo A/O onde a água passa a ser a fase dispersa e o óleo a fase contínua ambas recorrendo a agitação vigorosa (elevada tensão de corte) e a estabilizantes.

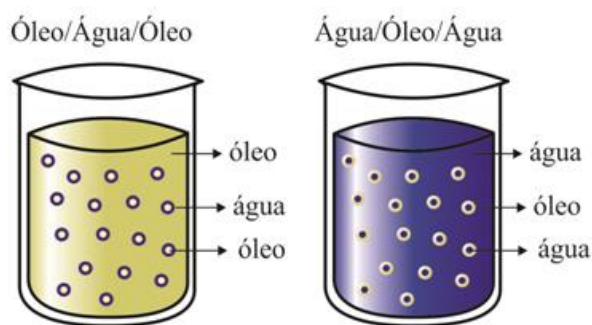
O passo de formação de gotículas na emulsão é o método fundamental, porque está relacionado com o tamanho e distribuição das partículas resultantes, que por sua vez afetam a taxa de liberação da droga e eficácia de encapsulação da droga determina. A formulação de dispersões de uma fase líquida dentro de outro líquido imiscível permanece uma importante área de pesquisa uma vez que estes são prontamente incorporados dentro de muitos produtos alimentícios, farmacêuticos, agroquímicos e cosméticos. Gotículas menores são obtidas por forças de cisalhamento mais fortes e aumento da turbulência quando aumenta a velocidade de agitação. A extensão da redução do tamanho depende da viscosidade das fases dispersas e contínuas, assim, em que o polímero e / ou concentrações de tensoativo, sobre a tensão interfacial entre as duas fases e a sua relação de volume,

sobre a miscibilidade da fase orgânica com a fase aquosa, sobre a taxa de difusão do solvente orgânico. Emulsões requerem o uso de um surfactante para estabilizar a interface da gota, é uma consideração importante para a produção de uma microestrutura com a distribuição de tamanho de gotícula desejado. Um aumento na concentração de surfactante provoca uma diminuição de tamanho de partículas, de modo que a emulsificação de ultrasson requer menos tensoativo do que a agitação mecânica obter o mesmo tamanho de partículas (Barba et al., 2014). Polímeros e copolímeros acrílicos, combinados ou não com tensoativos iônicos ou não iônicos, formam emulsões estáveis do tipo O/A.



**Figura 5** – Esquema do processo de emulsão simples (Giufriada, 2013).

O método da emulsão dupla (Figura 6) é um processo semelhante à emulsão simples, onde são utilizadas três fases: duas aquosas e uma orgânica do tipo água-óleo-água (A/O/A) ou duas fases orgânicas e uma aquosa do tipo óleo-água-óleo (O/A/O) onde as micelas resultantes da emulsão simples são encapsuladas novamente em outra fase. Estes são sistemas hetero dispersivos complexos que também podem ser usados em processos de nanoencapsulação. Em duplas emulsões a fase interna é em si uma emulsão separada da fase de outro líquido pela própria camada que a forma, isso permite a formação de um núcleo no interior da partícula. O processo de emulsão de duas fases é preparado com a presença de dois surfactantes, um dominado hidrofóbico usado para estabilizar a interfase A/O interna da emulsão e um dominante hidrofílico para estabilizar a interfase externa de glóbulos de óleo se a emulsão for do tipo A/O/A (Mora-Huertas et al., 2010).



**Figura 6** – Esquema do processo de emulsão dupla (Giufriada, 2013).

O método de microemulsão é, em geral, utilizado para encapsular ativos lipofílicos, mas ativos hidrofílicos também podem ser encapsulados utilizando emulsão A/O/A (Marcato et al., 2009).

Para formar uma emulsão tripla (A/O/A/O), ou Óleo-Água-Óleo-Água (O/A/O/A) a gota mais interna é encapsulada numa gota maior formando uma emulsão dupla, a qual é em seguida encapsulada numa gota ainda maior resultando em uma emulsão tripla (Abate et al., 2011).

Os principais exemplos de emulsificantes poliméricos são copolímeros de elevada massa molar derivados do ácido acrílico e do alquil metacrilato, contendo ligações cruzadas por éteres alílicos do pentaeritritol ou da alil sacarose (Villanova et al., 2010). A maioria dos processos de emulsificação foca na quebra das gotas em pequenas unidades através de energia mecânica, homogeneizadores, misturadores de rotor-estator, moinhos coloidais, etc. (Lloyd et al., 2015). Já (Barba et al., 2014) relata a utilização de ultrassons no preparo das emulsões pois a sua energia também assegura tamanhos das gotas cerca de três vezes menor do que obtidos pelo método de agitação mecânica.

#### **2.3.4. A tecnologia de fluido supercrítico.**

Os fluidos supercríticos (FSC's) são um atrativo nas aplicações de diversos processos, incluindo separações, reações e processamento de materiais, por causa do seu poder de solvente moderada e das suas propriedades de transporte nas taxas de transferência de massa a favor do solvente. As características dos fluidos supercríticos têm

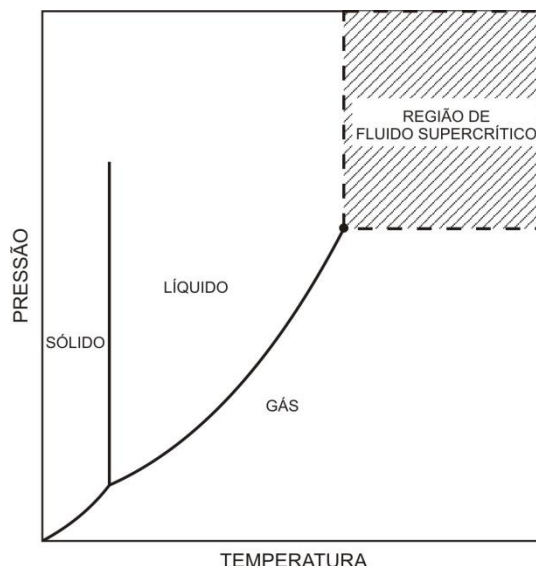


uma vasta gama de recursos no controle sobre a morfologia das partículas sólidas. (Uchita et al., 2015)

Os fluidos supercríticos são definidos como gases comprimidos ou líquidos acima das suas pressões e temperaturas críticas, nessas condições os fluidos supercríticos possuem vantagens centrais, devido as suas densidades estarem próximas do líquido o que fortalece as suas propriedades de solvente, por outro lado, a viscosidades a difusividade e a tensão superficial apresentam valores próximos ao estado gasoso, o que torna as propriedades de transporte bastante favorável (Pimentel, 2010).

Entre os diversos fluidos supercríticos o dióxido de carbono se destaca devido à sua baixa temperatura crítica ( $31,1^{\circ}\text{C}$ ), pressão moderada (73,8 bar) (Figura 7), natureza inerte e ambientalmente amigável e não inflamável e de baixo custo. Devido a essas características o mesmo possui uma ampla aplicabilidade na indústria farmacêutica principalmente nos processos de extração, separação e precipitação de compostos ativos, resultando na obtenção de substancias purificadas isentas de solventes residuais (Silva et al., 2014).

A Tecnologia dos fluidos supercríticos encontrou o seu espaço no processamento de polímeros, especialmente usando dióxido de carbono supercrítico ( $\text{CO}_2\text{SC}$ ) para o processamento compostos ativos farmacêuticos. Este interesse é em grande parte devido às condições de processamento leves, a alta difusividade e baixa viscosidade que permite entregar compostos ativos em matrizes poliméricas. O uso de impregnação de fluido supercrítico em materiais poliméricos apresenta vantagens interessantes em relação aos processos convencionais, tais como a oportunidade para tirar vantagem da alta difusividade, baixa tensão superficial do dióxido de carbono e a facilidade para separar e recuperar o material polimérico (Barros et al., 2015).



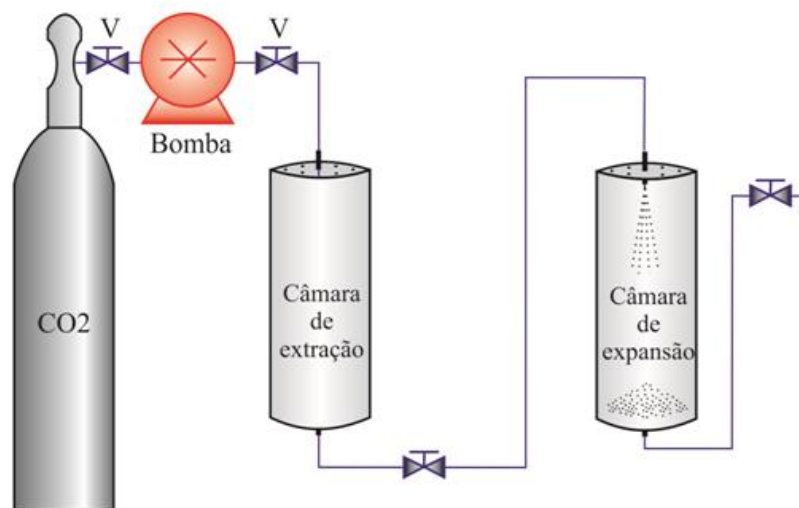
**Figura 7** – Diagrama de fases do CO<sub>2</sub>.

### 2.3.5. Técnicas de Expansão em FSC

Um interesse crescente em relação a esta área de investigação vem se desencadeando pelas inúmeras vantagens que esta tecnologia oferece sobre os métodos convencionais. Processos assistidos por FSC ultimamente têm emergido como alternativas verdes e inovadoras para uma ampla variedade de processos, tais como: aumento da solubilidade de fármacos poucos solúveis, plastificação de polímeros, por modificação da superfície por nano-dimensionamento e ajuste dos nanocristais, extração e cromatografia (Silva et al., 2014).

Em decorrência do papel que o FSC desempenha, existem três grupos de processos diferentes: solvente, antissolvente ou cossolvente. Muitos autores têm utilizado a combinação de leitos fluidizados e fluidos supercríticos para o revestimento das micro/nanopartículas, especialmente o processo de Rápida Expansão de Soluções Supercríticas (RESS – *Rapid Expansion of Supercritical Solutions*) (Figura 8), que consiste na saturação de um fluido supercrítico com um substrato e posterior despressurização desta solução através de um bocal ou capilar aquecido numa câmara de baixa pressão. Devido à queda rápida de pressão e de temperatura no sistema o soluto dissolvido no gás torna-se insolúvel em baixa pressão e assim um elevado grau de sobressaturação é criado no jacto de pulverização, ocorrendo uma rápida nucleação e o crescimento de partículas cristalinas.

Conseqüentemente, as partículas micro ou nanométricas podem ser produzidas por causa de um crescimento muito elevado de supersaturação e um tempo muito pequeno (Uchita et al., 2015). O processo RESS tem uma gama limitada de agentes de revestimento que podem ser utilizados, uma vez que esses agentes devem ser solúveis no FSC.



**Figura 8** - Diagrama esquemático da técnica RESS (Giufriada, 2013).

Infelizmente, muitos compostos polares ou de alto peso molecular, como é o caso dos polímeros, possuem solubilidade extremamente baixa em fluidos supercríticos comumente empregados na literatura, especialmente em  $\text{CO}_2$ . Isto faz com que a técnica RESS possua algumas limitações, tais como, a alta faixa de pressão necessária para obter solubilidades adequadas, o alto fluxo do fluido e o modo de operação do processo que é feito de forma descontínua em muitos casos (Giufriada, 2013).

Uma opção para melhorar esse processo de revestimento de partículas é a técnica Anti-Solvente Supercrítico (SAS – *Supercritical Anti Solvent*) (Figura 9), esta é considerado uma tecnologia limpa adequada para a produção de partículas. Geralmente, é utilizado a fim de micronizar os compostos de interesse em suaves condições operatórias de temperatura e baixo vestígio de solvente residual no produto final. Ao variar os parâmetros do processo, as características finais dos produtos podem ser ajustadas em termos de tamanho (partículas com tamanho de micro e nanométrico), morfologia e distribuição granulométrica estreita. Atualmente, existe um interesse crescente para a

elaboração de sistemas de entrega controlada. Para esse propósito, o processo SAS também pode ser aplicado a fim de coprecipitar moléculas biocompatíveis ou polímeros biodegradáveis de interesse (Djeraj et al., 2015).

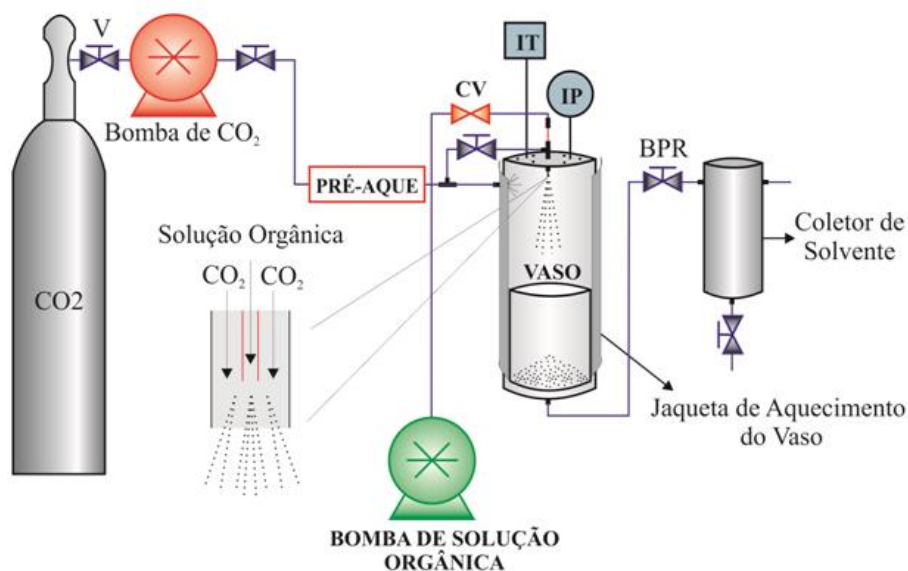
Este processo tem a vantagem de controlar as formas físicas através da variação das condições de trabalho como temperatura, pressão, taxa de fluxo ou solução. No entanto, os solventes utilizados neste método devem ser completamente miscíveis em CO<sub>2</sub>SC (Silva et al., 2014). O SAS baseia-se relativamente no baixo poder do solvente de CO<sub>2</sub> para solutos, tais como polímeros e produtos farmacêuticos e a sua boa miscibilidade com diversos solventes orgânicos (YOSHIDA, 2014).

Na técnica SAS o soluto de interesse tem que ser dissolvido em um solvente orgânico e os agentes devem ser insolúveis ao FSC, pois o mesmo tem afinidade pelo meio que esses agentes estão dispersos, assim o FSC arrasta o fluido solubilizante e precipitam os agentes de interesse, essa técnica tem sido amplamente usada na formação, encapsulamento e revestimento de micro/nanopartículas, devido a sua simplicidade de operação e menor geração residual de solvente nos produtos (Martín et al., 2015).

Quando a solução entra na fase supercrítica através de um bocal, o solvente é dissolvido no FSC que atua como anti-solvente, atingindo a supersaturação e causando a precipitação do soluto na forma de partículas finas (Martín et al., 2015). Na técnica Anti-Solvente (SAS) o sistema binário (antissolvente + solução orgânica) deve estar no estado supercrítico, para que a solução dissolvida na fase orgânica possa ser precipitada. Neste modo de processo, a solução e o antissolvente são adicionados simultaneamente em modo cocorrente por orifícios diferentes ou contracorrentes para dentro da câmara de precipitação, a qual já contém o antissolvente. Quando a solução é aspergida no meio contendo o antissolvente, ocorre a geração de micro gotas desta, gerando um rápido contato entre os meios, levando a uma alta taxa de supersaturação da solução. Este resultado gera uma rápida nucleação e crescimento, criando conseqüentemente, minúsculas partículas. Para que ocorra a formação de micro gotas, a solução normalmente é aspergida a uma pressão em torno de 20 bar (2,0 Mpa) superior a pressão de operação da câmara. (Giufreda, 2013).

Esta técnica é utilizada para precipitar os solutos (geralmente compostos polares) com baixa solubilidade no fluido supercrítico, e que são dissolvidos em solventes orgânicos que apresentam boa miscibilidade com CO<sub>2</sub>SC. Além disso, o processo SAS

usando  $\text{CO}_2\text{SC}$ , nos permite controlar e obter a distribuição e tamanho de partículas, as quais não são realizáveis por métodos convencionais (Djeraj et al., 2015).



**Figura 9** - Esquema do aparato experimental de produção de partículas por FSC como antissolvente (SAS) (Giufriada, 2013).

O método SAS antissolvente, tornou-se cada vez mais utilizado na produção de partículas, com um excelente potencial no campo da indústria farmacêutica e demais segmento industrial. Partículas de PLA contendo teofilina, luteína e rifampicina, foram produzidas com êxito pela metodologia SAS, bem como partículas de PCL contendo extrato de *Rosmarinus officinalis* (Sacchetin et al., 2015).

No decorrer dos últimos anos diversos trabalhos foram desenvolvidos utilizando as tecnologias descritas. Um modelo matemático detalhado para descrever a precipitação das micropartículas com antissolvente supercrítico PHBV em 313K e 80 bar foi apresentado. O modelo foi capaz de reproduzir a distribuição experimental diâmetros de partículas em diferentes concentrações de PHBV. A influência da razão de massa do antissolvente alimentado para a solução de solvente orgânico em diâmetros de micropartículas produzidas PHBV foi corretamente descrita pelo modelo (Cardoso et al., 2015).

Nano partículas de Policaprolactona (PCL) carregadas com progesterona (P4) foram obtidas pela emulsificação de uma mistura de acetato de etilo e água contendo P4 e

poli (álcool vinílico) (PVA) como o agente estabilizante sob a irradiação ultrassônica. Foi empregada como estratégia de secagem a técnica antissolvente SAS através da expansão de emulsão com o CO<sub>2</sub>SC. Obteve-se como resultado partículas com um tamanho médio de 82 nm, os resultados foram comparados com a secagem em condições ambientes. As nanopartículas de PCL secas pela expansão de CO<sub>2</sub>SC mostrou um diâmetro médio menor e a análise de dispersão de luz dinâmica (DLS) revelou uma distribuição de tamanho de partícula mais estreita, quando comparada com o diâmetro das nano partículas formadas com o processo convencional as quais apresentaram um tamanho médio de 174 nm (Guilherme et al., 2014).

Uso do processo SAS para a produção de nanopartículas de PHBV e PCL carregadas com progesterona para ser empregadas na produção de um sistema de liberação controlada, para o controle de ciclo estral em fêmeas bovinas para indução da superovulação e puberdade (Pimentel. 2010). Outros exemplos é o uso de hidrogéis superabsorventes (SH) na agricultura, principalmente aquelas baseadas em polissacarídeos, como condicionadores de solo e como transportadores poliméricos para liberação de nutrientes (Guilherme et al., 2015).

É importante citar também a técnica de dispersão da solução aumentada por fluidos supercríticos (SEDS – *Solution Enhanced Dispersion by Supercritical fluids*) que é um processo semicontínuo semelhante ao SAS, que consiste na pulverização de uma solução em gás condensado num recipiente pressurizado. No entanto, o desenho do bico de ambos os processos é diferente. No SEDS o bocal apresenta uma concepção coaxial com um comprimento de mistura, a fim de melhorar a transferência de massa e obter uma entrega simultânea da solução e anti-solvente (Taberner et al., 2012).

## 2.4. Polímeros

A busca contínua de novos materiais tem estimulado estudos com a mais variada gama de produtos químicos e compostos. Nas últimas décadas, o setor de biomateriais não só cresceu em número de produtos disponíveis e em desenvolvimento, mas também avançou economicamente de maneira significativa. Seu impacto na melhoria da qualidade da vida humana é inegável e sua contribuição futura deve ser numericamente mais elevada, tendo em vista a tendência bem estabelecida de envelhecimento populacional. Apesar de

atualmente os biomateriais metálicos dominarem o mercado mundial em cerca de 50%, espera-se no futuro próximo o crescimento acentuado do mercado de biomateriais poliméricos, em decorrência de características mais apropriadas quanto à flexibilidade, elasticidade, inércia biológica, biocompatibilidade e longevidade (Pires, 2015). Neste sentido, a tecnologia de polímeros tem proporcionado uma enorme contribuição para o desenvolvimento e design dos materiais originais. Diferentes áreas tecnológicas, como a medicina, engenharia, e agricultura, por exemplo, empregaram materiais poliméricos. Esta é estimulada por as vantagens em relação à matéria-prima de polímero convencional. Em linhas gerais, facilmente polímeros são processados e quimicamente modificados. Eles exibem propriedades físicas e mecânicas desejáveis, e em alguns casos acessível economicamente (Guilherme et al., 2015).

Polímeros são macromoléculas de alta massa molar formada pela ligação de unidades repetitivas menores (meros) ao longo da cadeia principal. As ligações entre os meros são covalentes, no entanto, ligações de hidrogênio entre diferentes cadeias, assim como interações de van der Waals e reticulação por meio de ligações covalentes podem também ocorrer. Os polímeros do tipo termoplásticos, por exemplo, capazes de se fundir e solidificar repetidas vezes, são caracterizados por apresentar ligações químicas fracas de van der Waals entre as cadeias. Desta forma, em aquecimento as cadeias são capazes de deslizar entre si, podendo também ser observada a ruptura de interações intercadeias. Já os polímeros termorrígidos são caracterizados por uma estrutura tridimensional reticulada estabilizada por ligações covalentes fortes. Assim, estes materiais são insolúveis e as ligações são rompidas somente por elevadas quantidades de energia, com consequente degradação do polímero (Pires, 2015).

A produção de polímeros está baseada no uso de insumos químicos oriundos do petróleo desde o início do desenvolvimento dos polímeros sintéticos, e mais recentemente a partir de fontes renováveis, que resultou na proposição de biopolímeros. O termo biopolímero ou bioplástico, tem sido empregado na literatura científica e relaciona os polímeros naturais e sintéticos, sendo os primeiros os obtidos e utilizados “*in-natura*”, às vezes, modificados por processos especiais ou biossintetizados, tais como as peles de animais, fibras vegetais, resinas extraídas de plantas e o *látex*, borracha natural, muitas vezes, designados por “biopolímeros”. Por outro lado, os polímeros sintéticos que têm como fonte de matéria prima os produtos naturais, durante o seu processamento, as sínteses

químicas conferem-lhes propriedades físico-químicas características dos polímeros desejados (Pitt et al., 2011).

Vários dos polímeros sintéticos utilizados na produção de biomateriais apresentam cinética de degradação conhecida e podem ser sintetizados de forma controlada e reprodutível. Estes materiais são facilmente adaptáveis para exercer uma grande variedade de propriedades funcionais, sendo possível manipular, por exemplo, a forma e o tamanho dos dispositivos, assim como suas propriedades mecânicas (como a viscoelasticidade). Nesta categoria, os principais tipos de polímeros constituintes de biomateriais são: poliamidas, polietileno, polipropileno, poliacrilatos, fluoro carbonos, poliésteres, poliuretanos, entre outros (Pires, 2015).

Os polímeros de origem biológica são abundantes e seus produtos de degradação são biocompatíveis e não tóxicos, o que os torna seguros para utilização na constituição de biomateriais. Além disso, apresentam custo acessível e são obtidos de fontes renováveis. No entanto, devido à complexidade dos meios dos quais estes são extraídos e à variabilidade por vezes intrínseca da matéria-prima, sua purificação pode se mostrar relativamente complexa. A variabilidade da matéria-prima, por exemplo, com relação às espécies biológicas das quais se extrai o material de partida ou ao local e época de coleta, pode afetar as propriedades do produto final. Notam-se, com frequência, diferenças nas características dos polímeros naturais de lote para lote, visto que os mesmos são extraídos de organismos vivos como algas, plantas, animais e microrganismos, ou são por eles expressos extracelularmente. Ainda assim, vários são os biopolímeros utilizados na produção de materiais com aplicações biomédicas, tendo destaque as proteínas (como colágeno, elastina e fibroína da seda) e os polissacarídeos (como quitosana, alginato, goma xantana, ácido hialurônico e pectina) (Pires, 2015).

A ausência de padronização dos termos referenciados envolve pelo menos mais três classes de materiais designados como “biopolímeros”, tais como polímeros biocompatíveis, polímeros biodegradáveis e polímeros de fontes renováveis. Materiais biocompatíveis são aqueles capazes de substituir os órgãos de seres vivos ou, ao serem implantados em organismos vivos, são facilmente adaptados e não liberam substâncias tóxicas. Destacam-se os polímeros usados como substitutos da platina ou titânio em próteses. Materiais biodegradáveis são degradados pela ação de fungos, bactérias ou algas e produzem dióxido de carbono, biomassa e água. Por último, polímeros oriundos de fontes



renováveis são aqueles fabricados a partir de insumos químicos extraídos de fontes renováveis, tais como etanol e são classificados como polímeros naturais ou sintéticos, biodegradáveis ou biocompatíveis (Pitt et al., 2011).

### 2.4.1. Aspectos Gerais

Os polímeros estão presentes em diversas aplicações do nosso cotidiano, sendo usados para a produção de embalagens, recipientes e peças plásticas, adesivos, tintas, fibras e tecidos sintéticos e dispositivos eletrônicos. Nos últimos tempos, os campos de aplicação dos materiais poliméricos se expandiram consideravelmente, alcançando as áreas de biotecnologia, farmacêutica e médica, com o desenvolvimento de materiais para a liberação controlada de medicamentos, agentes embolizantes para tratamento de tumores, cimentos ósseos e suportes para imobilização de enzimas. Essas diversas aplicações são possíveis pelo fato dos materiais poliméricos serem de fácil fabricação e processamento, terem baixos custos e de muitas de suas características poderem ser alteradas através da modificação de apenas algumas variáveis durante o processo de produção (Pinto, 2009).

Os polímeros podem ser de origem natural ou sintética, no entanto, as propriedades dos polímeros naturais não são tão facilmente manipuláveis como a dos polímeros sintéticos (Leimann, 2011). Os polímeros representam uma das classes de materiais mais versáteis disponíveis para aplicações em diversas áreas, inclusive a farmacêutica. Os principais polímeros naturais utilizados em matrizes são os hidrogeis de quitosana, alginato, sulfato de condroitina, gelatina, dextrina, hialuronana e poli(lisina). Exemplos de polímeros sintéticos são: bisacrilamida, poli(acrilamida) (PAM), polietilenoglicol (PEG), Poli(acetato de vinilo) (PVA), ácido poli(acrílico) (PAA), poli(ácido metacrílico) (PMAA), poli(acrilato de butila) (PBA), poli(metacrilato de metila) (PMMA), poli(N-isopropilacrilamida), polivinilpirrolidona (PVP), poli(fosfazona), poliácido láctico (PLA), nome (PCL), poli(metacrilato de 2-hidroxieta) (PHEMA), poli(oligo(óxido de etileno)monometilétermetacrilato) (POEOMA) contendo ligações cruzadas por grupos tióis e copolímeros diversos(Villanova et al., 2010).

### 2.4.2. Polímeros Biodegradáveis

Polímeros biodegradáveis podem ser definidos como aqueles que sofrem degradação macromolecular *in vivo*, por ação de enzimas, micro-organismos ou células. O termo biodegradação descreve os processos envolvendo quebra de cadeia e modificações da massa molar e da solubilidade do polímero. Processos biológicos, físicos e químicos, podem atuar na biodegradação. A biodegradabilidade dos polímeros é um atributo explorado na modulação da liberação de fármacos, uma vez que é altamente desejável que um material introduzido no organismo desapareça depois de cumprida sua função, sem a necessidade de intervenções para sua retirada. Os produtos de degradação formados são metabolizados a dióxido de carbono e água, via ciclo de Krebs, ou são excretados na urina (Villanova et al., 2010).

Os polímeros biodegradáveis empregados na produção de nanopartículas poliméricas por polimerização de monômeros são copolímeros do ácido metacrílico e de éster acrílico ou metacrílico. A composição polimérica (hidrofobicidade, carga superficial, perfil de degradação) e do princípio ativo encapsulado (massa molar, carga, localização na nanosfera, absorção ou incorporação) influenciam na biodisponibilidade, sendo a degradação polimérica realizada por esterases e dependente do comprimento da cadeia alquil do polímero. As vantagens deste veículo é promover a liberação controlada do componente incorporado (princípio ativo), e devido seu tamanho, é capaz de penetrar em pequenos capilares e alcançar as células, promovendo o direcionamento específico do componente por um período de dias ou semanas caso seja a forma farmacêutica endovenosa (Souto et al., 2012).

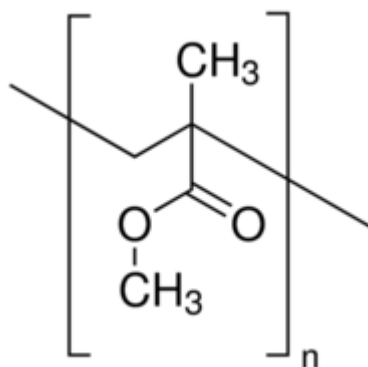
### 2.4.3. Tipos de degradação de polímeros

Existem inúmeros mecanismos de degradação de polímeros, alguns deles são destacados como - *Degradação térmica*: é a ruptura das ligações químicas devido a efeito da temperatura em ausência de oxigênio; *Degradação termo-oxidativa*: esta degradação é iniciada por processos térmicos e ocorre em presença de oxigênio ou outros oxidantes.

Ocorre durante o uso do polímero ou processamento do mesmo; *Degradação por macro-organismos*: quando o polímero é ingerido por um ser vivo, as reações mecânicas decorrentes da mastigação provocam a quebra de cadeias poliméricas, acelerando o processo de degradação; *Fotodegradação*: quando as quebras de cadeias poliméricas e degradação dos polímeros são decorrentes, principalmente da presença de radiações ultravioletas; *Degradação química*: é a reação entre polímeros e um agente químico, implica na cisão das cadeias poliméricas; *Degradação abiótica*: é a degradação na qual se faz necessária a presença de seres vivos, há 2 tipos -*Degradação por hidrólise*: comuns em polímeros com grupos -COO- e *Degradação por oxidação*: comum em polímeros com ligações duplas. Ambas restritas as regiões amorfas do polímero; *Degradação por hidrólise*: muito comum para poliésteres, os produtos desta reação também podem acelerar a hidrólise, agindo como catalisadores; *Degradação por oxidação*: comum em polímeros com duplas ligações olefínicas e baixa cristalinidade. Este tipo de degradação envolve três estágios: iniciação, propagação e térmica; *Degradação Microbiológica – Biodegradação*: ocorre em polímeros, que em contato com o meio ambiente, são atacados por fungos e bactérias degradando o material polimérico e formando materiais mais simples; *Ação de fungos*: agem sobre os materiais poliméricos, em condições ideais de temperatura e umidade, num processo aeróbico, liberando gás carbônico e devolvendo compostos nitrogenados ao solo, a radiação ultravioleta inibe a ação de fungos; *Ação de bactérias*: agem sobre os materiais poliméricos, tanto em condições aeróbicas quanto anaeróbicas, quebrando as cadeias poliméricas para a obtenção de nutrientes; *Degradação térmica*: poliésteres podem degradar-se termicamente através de reações de transesterificação, que é a reação entre uma hidroxila terminal e um éster, levando a formação de uma nova ligação éster. O resultado é a formação de copolímeros em bloco que com o decorrer da reação transformam-se em copolímeros aleatórios; *Degradação enzimática*: ocorre tanto em ambientes aeróbicos quanto anaeróbicos e depende da taxa de degradação enzimática, de fonte de alimento para micro-organismos, do pH e da temperatura. É provável que fungos e bactérias secretem enzimas capazes de degradar a superfície do polímero nas vizinhanças das células. Estas células adsorvem e metabolizam os produtos solúveis da degradação. Deste modo, a atividade enzimática resulta na erosão superficial e na gradual reação da espessura do polímero com o passar do tempo; *Degradação hidrolítica*: pode ocorrer em condições ácidas ou básicas (Pellicano, 2008).

## 2.5. Polimetil-Metacrilato (PMMA)

O PMMA é uma resina acrílica resultante da polimerização do metacrilato de metila (MMA) (Pires, 2015). PMMA é um termoplástico transparente com um grande número de aplicações tecnológicas em diversas áreas e sua estabilidade térmica e degradação sob atmosferas inertes e oxidantes, têm recebido uma atenção considerável na produção de micro e nanopartículas (Gaspar et al., 2015), possui peso molecular igual a ) Mw: 120.000 e estrutura molecular mostrada na Figura 10.



**Figura 10** – Estrutura molecular do PMMA.

O PMMA foi o primeiro acrílico empregado como biomaterial, inclusive em processos de revestimento farmacêutico. (Villanova et al., 2010). Trata-se de um polímero biocompatível com o organismo humano, utilizado em sistemas de liberação controlado (Coimbra, 2010). Há um interesse crescente no uso do (PMMA) como dispositivo de liberação controlada de drogas (Shaked et al., 2014). Este material polimérico transparente possui várias características desejáveis, tais como a resistência à hidrólise química, alta permeabilidade para muitas drogas, não tóxico, etc. Uma vez que as nanopartículas de PMMA não são biodegradáveis, eles têm utilidade em estudos de bioabsorção e distribuição celular. Esta característica permite o seu seguimento em longo prazo no meio fisiológico, sem contaminação de qualquer produto de degradação. Os primeiros experimentos de PMMA como um material de transporte estavam no campo de vacinas, e em grânulos para defeitos relativos à ressecção cirúrgica de osteomielite crônica. Outras aplicações biomédicas de PMMA incluem a sua utilização como um material de prótese dentária e correções mandibulares e como um implante permanente de lente intraocular após cirurgia de catarata. Atualmente, é geralmente aceite que o PMMA é um polímero

não tóxico, uma vez que possui um bom histórico de segurança toxicológica em aplicações biomédicas (Ridhima et al., 2014).

Nanopartículas poliméricas de PMMA impregnadas com praziquantel, sintetizadas pelo processo de polimerização em miniemulsão, foram produzidas para compor uma suspensão farmacêutica pediátrica. As nanopartículas foram caracterizadas em termos das propriedades físico-químicas, toxicológicas e da atividade biológica em camundongos. Os resultados encontrados foram satisfatórios, taxa de encapsulamento de 90%, ausência de interação química fármaco-polímero e presença de atividade biológica (Fonseca et al., 2013).

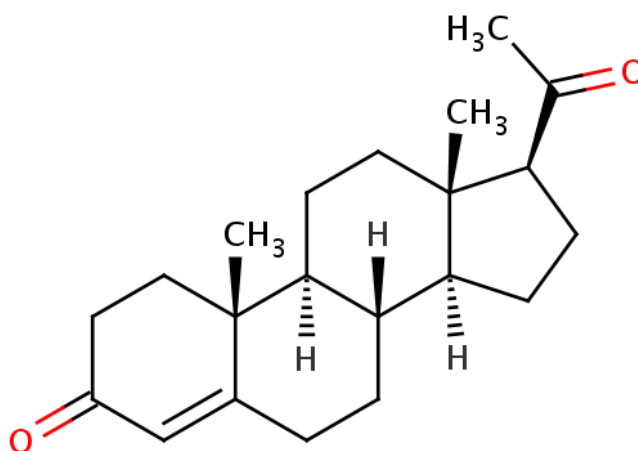
Nanopartículas de PMMA foram preparados por polimerização em miniemulsão, e testadas para a citotoxicidade em células de leucemia monocítica aguda (THP1) e em células de adenocarcinoma do pulmão humano. As nanopartículas de PMMA não apresentam qualquer citotoxicidade observável quando testado contra uma linha de células leucêmicas humanas (THP 1) e para células adenocarcinoma do pulmão humano. Estes resultados são relevantes para o desenvolvimento de agentes antitumorais encapsulada em nanopartículas de PMMA (Feuser et al., 2014).

Enejder, 2011 e colaboradores demonstram através da técnica de microscopia óptica não linear, o mapeamento de distribuição espacial a eficiência de encapsulação e taxas liberação do fungicida IPBC(3-iodo-2-propinil-butil carbamato) em matrizes de PMMA, produzidas através de técnica de emulsão simples.

## **2.6. Progesterona**

A progesterona é a principal substância progesterona produzida pelas células ovarianas, do corpo lúteo ou sintetizado por extração química da diosgenina presente em inhames e soja. A diosgenina é quimicamente modificada para produzir a precursora progesterona, a qual é utilizada para sintetizar estrógenos e andrógenos bioidênticos (Pereira., 2013). Essa última síntese envolve acetólise, oxidação com ácido crômico, clivagem do diacetatocetoéster com ácido acético crômico, clivagem do diacetatocetoéster com ácido acético em ebulição até acetato de 16-desidropregnenolona. A saponificação do éster acetato ao 3 $\beta$ -álcool, seguida de oxidação de oppenauer, produz a progesterona. A

progesterona em sua forma pura foi isolada pela primeira vez do corpo lúteo por Butenandt, em 1934. Trata-se de um pó cristalino branco-cremoso, inodoro e estável ao ar sofre fusão a cerca de 128°C; uma modificação polimórfica sofre a cerca de 121°C, é denominada Pregna-4-ene-3,20-diona de fórmula molecular  $C_{21}H_{30}O_2$  e peso molecular de 314 g/mol, praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool, acetona ou dioxano, escassamente solúvel em óleos vegetais (Remington.,2014). Sua estrutura molecular é mostrada na Figura 11.



**Figura 11** – Estrutura molecular da progesterona.

Secretada pelo corpo lúteo após a ovulação, tem diversas atividades biológicas. Mantém a gestação por meio de seus efeitos antiestrogênicos: transforma o endométrio em um tecido secretor, permitindo a implantação do blastocisto, e evita novo episódio de ovulação por seu efeito antigonadotrófico. Apresenta também um efeito antiandrogênico, por ser um substrato preferido pela enzima 5-alfa-redutase, acoplado-se ao receptor androgênico e evitando a conversão de testosterona em diidrotestosterona, seu metabólito ativo e andrógeno potente (D). A progesterona cristalina é pobremente absorvida pela via oral. Quando quebrada em partículas menores, chamada de micronizada, apresenta maior absorção. Mesmo assim, tem baixa biodisponibilidade pelo intenso metabolismo de primeira passagem (D). A progesterona natural vem ganhando atenção no uso de terapia hormonal (TH), pois, além de proteger o endométrio, causa menor sangramento vaginal e menor impacto no perfil lipídico. Atualmente, sabe-se que a dose deve ficar entre 200 e 300 mg para garantir proteção endometrial em pacientes em uso de TH combinada com

estrogênio (D). É mais utilizada como suporte de fase lútea durante tratamento de fertilização assistida (Vigo et al, 2011).

A progesterona está ligada a classe dos hormônios bioidênticos os quais são empregados na medicina do antienvhecimento que preconiza a terapia de modulação hormonal bioidêntica, recomendando o uso de hormônios em mulheres (a partir dos 30 anos) antes e após a menopausa, por tanto tempo quanto se fizer necessário, desde que as indicações e as necessidades clínicas justifiquem, e que nenhum evento adverso ocorra e contraindique o seu uso. Os supostos benefícios dessa nova terapia incluem: manutenção da densidade mineral óssea; diminuição dos sintomas; prevenção das doenças cardiovasculares; diminuições do risco de câncer de mama; e tratamento de outras doenças e condições como insônia obesidade depressão estresse diminuição de memória e cognição (Pereira, 2013).

A progesterona (P4) e seus análogos têm sido usados em protocolos de sincronização há vários anos (Giufreda, 2013). Foi a uma das primeiras drogas a serem utilizadas para o controle de ciclo estral de ruminantes, os tratamentos por meio de administrações diárias de P4 resultam em altas taxas de sincronização do estro. Assim os protocolos hormonais de indução e sincronização do estro servem como ferramenta para aumentar os índices reprodutivos em bovinos. Dentre as principais vantagens destacam-se a possibilidade de viabilizar a inseminação artificial de vacas, reduzir os intervalos entre parto/concepção, concentrar os partos, antecipar a prenhes na estação de monta, padronizar os lotes de bezerros e aumentar a eficiência no índice de desmame (peso ao desmame e números de animais desmamados), refletindo diretamente na racionalidade da mão de obra e no custo/benefício da atividade (Miguez, 2011).

A progesterona possui ação fisiológica peculiar e distinta daquela do estrogênio. As progestinas (progesterona e seus derivados) transformam o endométrio proliferativo em endométrio secretor. Essa alteração faz parte da mudança essencial para a implantação de um ovo fertilizado e para o desenvolvimento contínuo da placenta. Essa alteração endometrial exige a cooperação de um estrogênio; na ausência deste último, a progestina, que é desprovida de atividade estrogênica, exerce um efeito atrofio sobre o endométrio (Remington, 2014).

Em geral, os compostos de 21 carbonos que são derivados da progesterona reproduzem rigorosamente as ações farmacológicas do hormônio natural da progesterona.

A progesterona possui alguns derivados de grande interesse para o controle hormonal tais como a hidroxiprogesterona, acetato de megestrol e acetato de medroxiprogesterona. (Remington, 2014).

As progestinas produzem aumento na viscosidade das secreções cervicais impedindo o movimento dos espermatozóides. As progestinas em altas doses suprimem a liberação hipofisária do hormônio luteinizante, bem como a liberação hipotalâmica do GnRH, impedindo assim a ovulação. As progestinas diminuem a mobilidade uterina, o que pode contribuir para um efeito anticoncepcional. Também tem a capacidade de estimular o desenvolvimento das porções glandulares da mama, capacidade de retenção de água pelos tecidos nos espaços intercelulares e ação termogênica. As progestinas podem ser utilizadas ciclicamente no tratamento de infertilidades, quando o útero não é receptivo a implantação; a progestina mantém o endométrio secretório durante a terceira e quarta semanas do ciclo menstrual. As progestinas são utilizadas de modo cíclico com estrogênios durante a terceira e quarta semanas do ciclo menstrual. As progestinas são utilizadas de modo cíclico com estrogênio no tratamento das amenorreias secundárias e do sangramento uterino disfuncional. Além disso, podem ser prescritas para reduzir a tensão pré-menstrual, embora causem retenção de sal e de água, o que constitui um fator nesse distúrbio. No infantilismo sexual em indivíduos do sexo feminino, as progestinas podem ser combinadas com estrogênios para induzir o desenvolvimento e a maturação genital (Remington, 2014).

Micro e nanopartículas poliméricas têm sido propostos como uma alternativa para encapsular progesterona. Pois além da entrega controlada, encapsulamento também fornece proteção contra a degradação prematura durante o manuseio e armazenamento antes do uso, o aumento da absorção e biodisponibilidade, melhora no tempo de retenção no interior do organismo e melhoria da penetração intracelular (Leimann et al., 2015).

Sistemas de administração controlada de longa duração para a progesterona têm sido utilizados na regulação do ciclo estral em mulheres, vacas e ovelhas através da incorporação de progesterona em matrizes poliméricas biodegradáveis e não biodegradáveis. Pois a cinética de degradação e, conseqüentemente, a taxa e o tempo de libertação do fármaco podem ser controlados a partir da matriz polimérica fazendo variar a composição de copolímero, peso molecular, e grupo terminal das cadeias poliméricas (Turino et al, 2014).



### 3. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

Este trabalho tem como objetivo:

- Produzir micro e nanopartículas a base de poli(metil metacrilato) (PMMA), utilizando duas técnicas distintas: técnica de emulsão simples com evaporação de solvente e a técnica utilizando fluido Supercrítico (FSC) via SAS (supercrítico anti-solvente).
- Caracterizar as matrizes poliméricas obtidas em termos de tamanho e morfologia utilizando técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Promover um sistema de liberação modificada por meio das micro e nanopartículas de PMMA carregadas de P4 como substância modelo.
- Avaliar a eficiência de encapsulamento e capacidade de liberação modificada das matrizes de PMMA carregadas de P4 por meio de um sistema *in vitro*.
- Realizar estudos de caracterização do material produzido utilizando técnicas de Varredura Diferencial de Calorimetria (DSC), Termogravimétrica (TGA), Espectroscopia em Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) e potencial zeta.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo será descrito os materiais e os métodos utilizados para a produção e caracterização da micro e da nano partículas de PMMA impregnadas com P4.

### 4.1. Materiais.

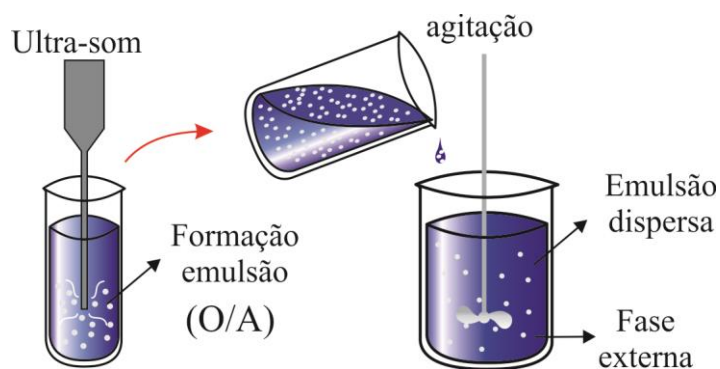
Poli (metil metacrilato) (PMMA, Mw: 120.000 g.mol<sup>-1</sup>, CAS 9011-14-7, Sigma-Aldrich<sup>®</sup>) foi usado sem nenhum pré-tratamento de purificação, Acetona PA (99,5%, 58,08 g.mol<sup>-1</sup>, 67-64-1, Nuclear), Poli Vinil Álcool (PVA, CAS9002-89-5, Mw: 30.000 a 70.000 g.mol<sup>-1</sup>, 87- 90%, Sigma-Aldrich<sup>®</sup>). Progesterona (P4, CAS57-83-0, 314,47 g.mol<sup>-1</sup>) foi doada Genix indústria Farmacêutica LTDA – Brasil, Álcool Etílico (99,5%, CAS: 60-17-5, Nuclear). Diclorometano (DCM) (99,5%, CAS75-09-2, 84,93 g.mol<sup>-1</sup>, Nuclear), Clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>) (99,8%, CAS67-66-3, 119,38 g.mol<sup>-1</sup>, Nuclear), CO<sub>2</sub> (99,9%, CAS124-38-9, 44,01 g.mol<sup>-1</sup>, White Martins S.A). Membrana de diálise obtido da Sigma 12400 MWCO, 99.99% retenção, e Água deionizada (NANO purell: Barnstead), com revestimento de 18 MΩ. cm<sup>-1</sup>.

### 4.2. Métodos

Para a produção da micro e da nano partículas de poli (metacrilato de metila) (PMMA), foram utilizadas dois diferentes métodos de produção de partículas: técnica Emulsão Simples com evaporação do solvente orgânico (TES) e o método Supercrítico Anti-Solvente (SAS). Após o processo de produção das partículas, as mesmas foram caracterizadas em termos de tamanho e polidispersidade e posteriormente os melhores resultados em função de cada metodologia de produção, foram selecionados e reproduzidos com a incorporação do P4 em sua formulação (PMMA+P4), tendo como propósito promover o carregamento do princípio ativo entre a matriz polimérica. Para tanto foram realizados também ensaios de eficiência de encapsulação (EE%) e cinética de liberação para determinação quantitativa de P4 incorporada em PMMA.

#### 4.2.1. Produção das partículas pela TES

A técnica de TES abordada neste trabalho é constituída por uma emulsão do tipo A/O em que água constitui fase dispersa e o óleo a fase contínua. Em primeiro momento, preparou duas soluções de surfactante em base aquosa com concentrações diferentes de PVA, sendo uma solução para compor a fase interna e outra solução para compor a fase externa. Em seguida dissolveu-se o polímero PMMA em solvente orgânico selecionado em condições pré-estabelecidas de concentração e volume e aguardou tempo suficiente para completa dissolução/solubilização do mesmo. Em segundo momento foram separadas quantidades específicas de cada solução (solução orgânica + PMMA, água + PVA fase interna e externa). Para o componente de fase externa, a solução de menor concentração de água + PVA foi acondicionada em um Becker de 100 mL sobre leve agitação com uso de agitador elétrico e barra magnética. Em um terceiro momento adicionou-se a solução orgânica de quantidade estimada junto à solução de água+PVA de maior concentração e em seguida submeteu a mistura obtida a ultrassom de alta frequência para promover a homogeneização e quebra da mistura obtendo emulsões com micelas de tamanhos muito pequenos. Para este processo utilizou um ultrasonicador de alta frequência (Ultronique, modelo: Desruptor; Freq. US: 20 KHz; Potencia US: 500 W). Diversas condições em termos de concentração das soluções (PMMA, PVA), tempo e potência aplicada no ultrassom foram variados e são apresentadas na Tabela 1. Um banho de gelo foi utilizado sob o recipiente do sistema durante o processo de ultrassom como objetivo de impedir um aumento indesejado da temperatura durante o processo.



**Figura 12** - Esquema representativo da Emulsão simples/evaporação.

Posteriormente a emulsão obtida foi lentamente despejada na solução de surfactante externa (água + PVA de menor concentração) que anteriormente foi acondicionada no Becker de 100 mL. O sistema manteve-se sob leve agitação por tempo de 24 horas para que se ocorra completa evaporação do solvente orgânico. As etapas da TES estão representadas no esquema da Figura 12.

Decorrido o tempo necessário para completa evaporação do solvente orgânico em meio à solução aquosa contendo partículas dispersas, foi realizado processo de lavagem para remoção do surfactante (PVA) em meio à solução. A quantidade total de solução foi divididas em frascos de 50 mL e submetida à centrifugação por um tempo de 30 min a 10.000 rpm e temperatura controlada de 5°C. Depois de decorrido tempo programado de centrifugação, com o uso de uma pipeta de Pasteur, o sobrenadante foi removido cuidadosamente de forma a restar somente sólidos no depositados no fundo dos tubos. Nova quantidade de água deionizada foi adicionada no tubo e o mesmo foi submetido agitação em vortex para re-suspensão dos sólidos em meio aquoso, e novamente submetido a centrifugação nas mesmas condições anteriores. Este processo foi realizado três vezes para completa remoção do surfactante.

O processo de secagem foi realizado por meio de liofilização. As amostras suspensas em quantidade menor de água foram congeladas a – 80 °C e posteriormente acondicionadas no liofilizador onde permaneceu o tempo necessário para completa remoção da água.

**Tabela 1** - Condições experimentais utilizadas para o preparo das partículas via TES.

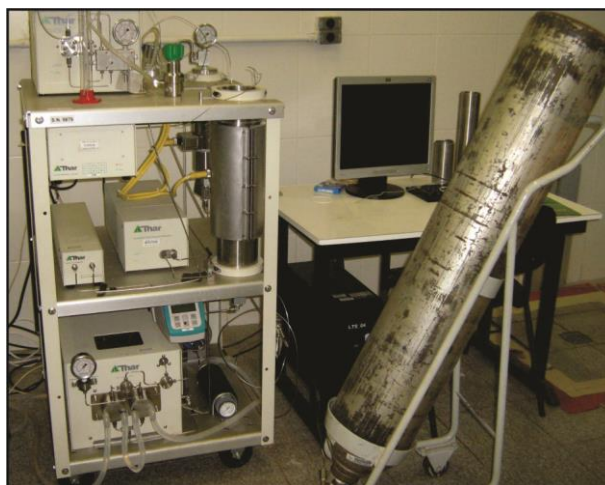
Condições	PMMA	Solvente Orgânico /Vol.	PVA (Fase Interna) Vol./%	Potencia Ultrasom (Potência/Tempo)	PVA (fase externa) Vol./%
1	10 mg	DCM/5ml	8 ml/2,5%	200w/5mim	100ml/1%
2	20mg	DCM/5ml	8 ml/2,5%	200w/5mim	100ml/1%
3	30mg	DCM/5ml	8 ml/2,5%	200w/5mim	100ml/1%
4	10mg	CHCL <sub>3</sub> /5ml	8 ml/2,5%	200w/5mim	100ml/1%
5	20mg	CHCL <sub>3</sub> /5ml	8 ml/2,5%	200w/5mim	100ml/1%
6	30mg	CHCL <sub>3</sub> /5ml	8 ml/2,5%	200w/5mim	100ml/1%
7*	20mg	DCM/5ml	8 ml/2,5%	200w/5mim	100ml/1%

\* para esta condição foi adicionado 10% de P4 em relação à massa total de PMMA.

A amostra N° 7 foi conduzida com as mesmas condições da amostra N° 2 e acrescentado 10% de P4 em função da massa de PMMA. Esta escolha foi feita em decorrência dos melhores resultados obtidos em termo de tamanho entre as seis primeiras condições descritas na tabela 1.

#### 4.2.2. Método supercrítico antissolvente (SAS)

Partículas de PMMA foram produzidas utilizando equipamento Super Particle SAS Modelo 200 (THAR) (Figura 13).



**Figura 13** - Imagem real do aparato experimental SAS – THAR.

O equipamento consiste em duas bombas de alta pressão, uma para alimentação do antissolvente ( $\text{CO}_2$ ) e outra para a solução contendo o soluto e pressurização do sistema. Uma câmara de expansão com sistema de aquecimento interno e externo e duas válvulas reguladoras de pressão do tipo BPR (Back Pressure Regulator), sendo uma (manual) para o controle de pressão de entrada da solução orgânica e outra (eletrônica) para controle de pressão de saída do antissolvente após passagem pelo sistema de expansão. Um banho termostático localizado antes da bomba do antissolvente para liquefazer o gás e um trocador de calor localizado após a bomba de antissolvente para expansão do gás e melhor eficiência de pressão. O sistema foi monitorado por um medidor de fluxo de massa, e um computador com software disponibilizado pela THAR para monitoramento e controle de pressurização, aquecimento, alimentação e fluxo do sistema.

O sistema de entrada e alimentação dos componentes no vaso de expansão é composto por um conjunto capilar/pick-tubo com diâmetro interno reduzido de 150  $\mu\text{m}$ , e operado em modo contínuo cocorrente com uma pequena mudança no sistema de alimentação do  $\text{CO}_2$  com o propósito de aumentar a turbulência no interior da câmara de expansão como pode ser observado no esquema da Figura 9 (Capítulo II). Este aparato consiste de um sistema de precipitação no qual o antissolvente e a solução orgânica são inseridos no topo da câmara de expansão em que o soluto formado é armazenado em um copo coletor e os demais compostos são descarregados por uma saída localizada no fundo do vaso. A expansão ocorreu em uma câmara de expansão com volume interno de 2 L composta por um sistema de aquecimento elétrico para manter a temperatura interna controlada durante toda reação. O interior da câmara de expansão é composto por um vaso coletor que possui no fundo um filtro de aço sinterizado com a função de permitir apenas a passagem do solvente e antissolvente e reter o soluto expandido. A mistura de compostos que saem da câmara de expansão são direcionados para um vaso coletor de volume interno igual a 500 mL e mantidos a uma pressão controlada de 10 bar (1,0 MPa) com o uso de uma válvula manual reguladora de pressão do tipo BPR. As condições de operação utilizadas no sistema de expansão são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2** - Condições operacionais utilizadas no sistema SAS para produção de nano partículas de PMMA.

Condições	Pressão (MPa)	Solvente Orgânico	Concentração de PMMA mg/mL	Fluxo de solução mL/min	Fluxo de CO <sub>2</sub> g/min	Temperatura K
1	8,0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	30	1	30	313
2	8,0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	30	1	15	313
3	8,0	DCM	30	1	15	313
4	7,0	DCM	10	1	15	313
5	100	DCM	40	1	10	313
6	100	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	40	1	15	313
7	100	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	40	1	15	313
8	8,5	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	30	1	30	318
9	8,5	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	40	1	30	318
10	8,5	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	50	1	30	318
11	8,0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	40	1	40	313
12	8,0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	30	1	40	313
13	8,0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	20	1	40	313
14	8,0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	40	1	60	313
15	8,0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	30	1	60	313
16	8,0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	20	1	60	313
17*	8,0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	30	1	15	313

\* para esta condição foi adicionado 10% de P4 em relação à massa total de PMMA.

Assim como nos experimentos de TES para os resultados obtidos via SAS, a amostra N° 17 foi conduzida com as mesmas condições da amostra N° 2 e acrescentado 10% de P4 em função da massa de PMMA. Esta escolha foi feita em decorrência dos melhores resultados obtidos em termo de tamanho entre as dezesseis primeiras condições descritas na tabela 2.

### 4.3. Caracterização das amostras

#### 4.3.1. Análise de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

O tamanho médio das partículas, a distribuição de tamanho e o índice de polidispersidades foram obtidos por meio de espalhamento de luz dinâmico (DLS) em um

equipamento Delsa Nano S – Beckman Coulter. Para análise das amostras uma quantidade significativa da mesma foi dispersa em água deionizada e posteriormente submetida à análise com uso de uma cubeta de quartzo.

#### **4.3.2. Análises das partículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A morfologia das partículas de PMMA foi analisada por Microscópio Eletrônico de Varredura da marca Shimadzu (modelo SS-550). As partículas micro e nano foram metalizadas com ouro em um metalizador (Bal-Tec- SCD050) por um tempo estimado de 60 segundos e uma corrente de 64 mA. O microscópio eletrônico operou com uma tensão de 15.0 kV.

#### **4.3.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)**

A caracterização morfológica da micro e da nano partículas de PMMA também foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (modelo JEOL JEM- 1.400). As amostras de micro e nano partículas foram diluídas em água deionizada a 0,01 % (m/v) de sólidos poliméricos e gotejados sobre grades de cobre de 300 mesh, após a secagem das amostras pingou-se uma pequena gota de acetato de uranila sobre cada amostra. As grades foram secas em um dessecador. O microscópio foi operado a 120 kV.

#### **4.3.5. Análises Térmicas das partículas (DSC e TGA)**

As análises das partículas por meio de Varredura Diferencial de Calorimetria (DSC) foram realizadas em um equipamento da marca Shimadzu (modelo, DSC-60). Pequenas quantidades de amostras foram acondicionadas separadamente em cadinhos de alumínio e submetidas a uma rampa de aquecimento controlada. A faixa de temperatura variou entre 0 a 500 °C, com uma taxa de aquecimento de 10° C.min<sup>-1</sup> e atmosfera com fluxo 50 ml.min<sup>-1</sup> de N<sub>2(g)</sub>.



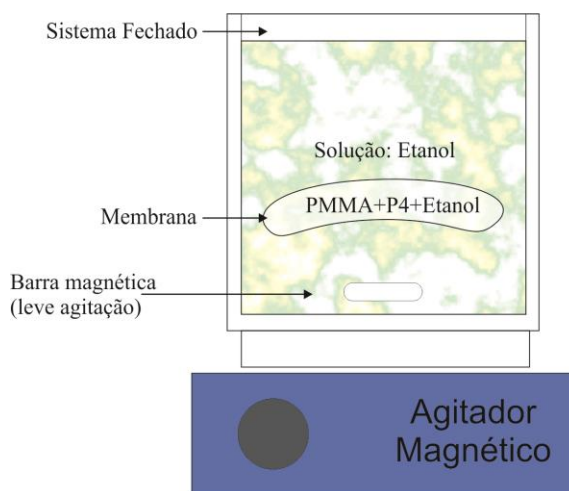
As análises Termogravimétricas (TGA) foram realizadas em equipamento da marca Perkin Elmer (modelo STA-6000). A massa das amostras analisadas foram de aproximadamente de 8,500 mg. A faixa de temperatura avaliada variou entre 30 a 800 °C com uma taxa de aquecimento de 10°C/min<sup>-1</sup> e fluxo 50 ml/min<sup>-1</sup> de N<sub>2(g)</sub>.

#### **4.3.6. Espectroscopia em Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)**

Para as análises por espectroscopia de absorção na região do infravermelho utilizou-se um equipamento da marca Shimadzu (modelo IR AFFINITY-1). Quantidades iguais a 20 mg de amostras foram misturadas com 180 mg de brometo de potássio (KBr). Após confeccionou-se as pastilhas, as quais foram secas em estufa a 80 °C e então analisadas no espectrômetro. Foram obtidos espectros na faixa de 4000 a 450 cm<sup>-1</sup> e resolução de 4 cm<sup>-1</sup> com 32 varreduras.

#### **4.3.7. Determinação da Eficiência do Encapsulamento (EE%)**

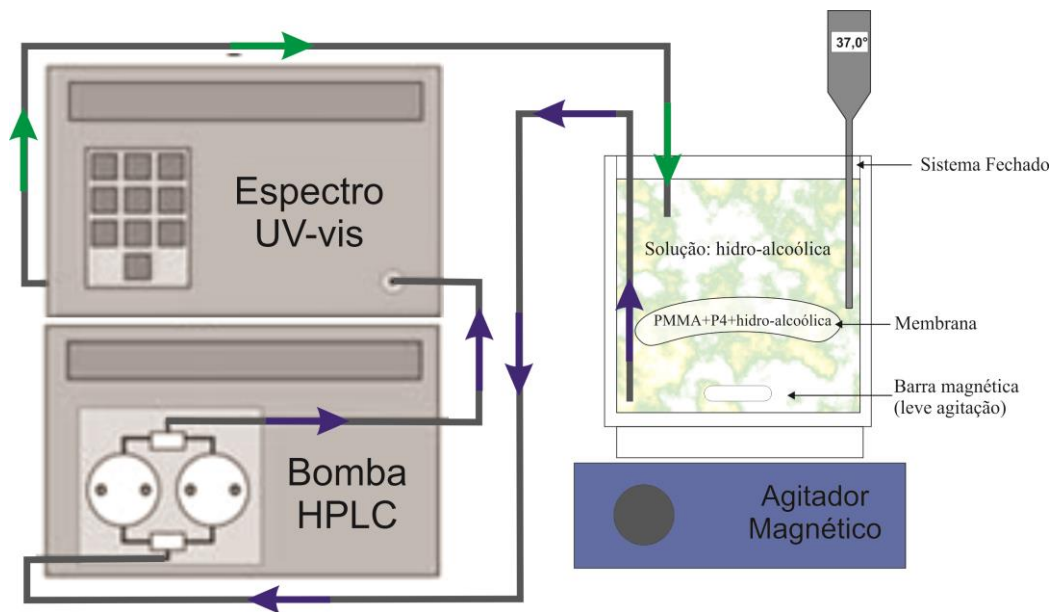
A EE% foi realizada em um sistema de diluição no qual as partículas ficaram isoladas em parte da solução por uma membrana de diálise (12400 MWCO, 99.99% de retenção). As membranas de diálises foram submetidas à hidratação em água destilada por um período de 24 h sob a refrigeração. No primeiro momento uma quantidade de 50 mg de amostra foi acondicionada no interior da membrana de diálise hidratada com 30 mL de etanol. No segundo momento a membrana, contendo as partículas e o etanol, foi lacrada e acondicionada em um recipiente contendo 120 mL de etanol, somando assim um total de 150 mL de solução. O sistema permaneceu fechado sob a leve agitação durante 48 horas (Figura 14). Após o tempo de reação uma quantidade da solução externa a membrana de diálise foi coletada e submetida à análise no espectro UV-vis marca Shimadzu (modelo UV-2601) ajustado para leituras com comprimento de onda igual a 237 nm e posterior quantificação de P4 extraídas das partículas de PMMA e agora contidas na solução de etanol. As análises foram conduzidas em triplicatas.



**Figura 14** – Esquema do aparato utilizado para realização do estudo de EE%.

#### 4.3.8. Determinação da Curva de liberação em meio “*in vitro*”

Os estudos de liberação “*in vitro*” das partículas foram realizados em um sistema de dissolução contendo solução hidroalcoólica de acordo com Palmer *et al.*, 2011. Primeiramente, membranas de diálises foram submetidas à hidratação em processo idêntico realizada na EE%. Foi preparada uma solução hidroalcoólica contendo 40 % de água. O sistema foi ajustado a uma temperatura de 37 °C com o uso do sistema de aquecimento do agitador da marca Ika (Modelo: Ret - B) e após estabilizar a mesma, 100 mg de partículas foram acondicionadas no interior de uma membrana de diálise hidratada juntamente com um volume de 30 mL de solução hidroalcoólica, e posteriormente a membrana lacrada e acondicionada em no recipiente do sistema de aproximadamente 270 mL de volume contendo 220 mL de solução hidroalcoólica. O sistema permaneceu conectado diretamente a uma bomba de HLPC em série com um espectro UV-vis da marca Shimadzu (Modelo: SPD - 10 A) para leitura direta em termos de comprimento de onda e em fluxo contínuo da solução externa a membrana de diálise. O espectro manteve-se ajustado ao comprimento de onda de 237 nm. O fluxo da bomba foi ajustado em 2 mL.min<sup>-1</sup> mantendo uma circulação contínua da solução entre o sistema e o espectro. Após a solução passar pelo espectro a mesma retornou para o sistema sem que ocorresse qualquer perda de volume da solução conforme ilustra o esquema mostrado na Figura 15.



**Figura 15** – Esquema ilustrativo do aparato utilizado para realização dos ensaios de liberação em um sistema “*in vitro*”.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados os resultados e discussões pertinentes a micro e nanopartículas produzidas com PMMA e carregadas com P4 com o objetivo de avaliar a eficiência de encapsulamento e o comportamento do princípio ativo diante de matrizes poliméricas obtidas em duas diferentes técnicas de produção. Conforme apresentado no Capítulo IV neste contexto também abordaremos os resultados e discussões dos dois métodos experimentais utilizados no desenvolvimento deste trabalho.

### 5.1. Análise de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

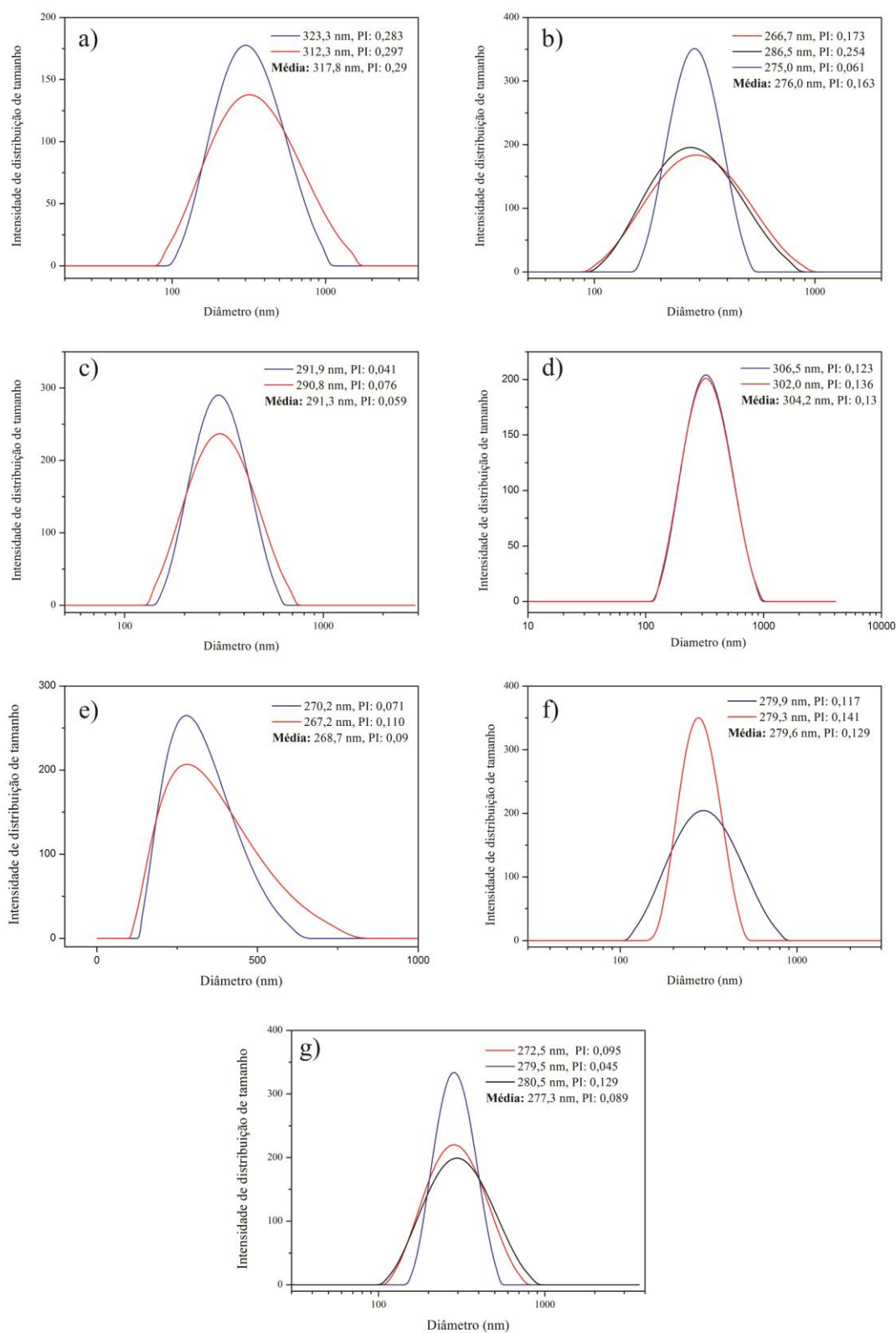
#### 5.1.1. Micro e Nanopartículas de PMMA produzidas via técnicas de TES

Todas as amostras destacadas na Tabela 1 e Tabela 2 deste trabalho foram caracterizadas primeiramente por análise de DLS, no entanto é possível notar que algumas amostras não obtiveram resultados analíticos, ou seja, o tamanho e dispersão se mostraram superiores ao limite que o equipamento pode determinar.

**Tabela 3** – Resultados de tamanho das partículas de PMMA produzidas por técnica de TES e caracterizadas por análise de DLS.

Condições	Tamanho $\pm$ Dispersão (nm)
1	317,8 $\pm$ 0,290
2	276,0 $\pm$ 0,163
3	291,3 $\pm$ 0,059
4	304,2 $\pm$ 0,130
5	268,7 $\pm$ 0,090
6	279,6 $\pm$ 0,129
7*	277,3 $\pm$ 0,089

\* para esta condição foi adicionado 10% de P4 em relação à massa total de PMMA.



**Figura 16** – Gráficos de caracterização de distribuição de tamanho médio obtidos por DLS das amostras de partículas de PMMA produzidas via TES e descritos conforme a

Tabela 3, sendo: a) Condição N° 1, b) Condição N° 2, c) Condição N° 3, d) Condição N° 4, e) Condição N° 5, f) Condição N° 6 e g) Condição N° 7.

Todas as amostras de micro e nanopartículas de PMMA produzidas via técnica de emulsão simples obtiveram resultados pertinentes a análise de caracterização de tamanho por técnica de DLS conforme pode-se observar na Tabela 3 deste capítulo. Os resultados que mais se destacaram foram das condições de N° 2 e N° 5, no qual obtiveram partículas de PMMA de tamanhos médios de  $276,0 \pm 0,163$  e  $268,7 \pm 0,090$  nm. Nota-se que a condição N° 7 foi conduzida com as mesmas condições do experimento N° 2 e acrescentado 10% de P4 em sua composição para avaliação da matriz em termos de eficiência de encapsulamento (EE%) e cinética de liberação “*in vitro*”, detalhes que serão abordados na sequência do texto. Observa-se que apesar da condição N° 2 ser escolhida para uso como modelo a condição de N° 5 apresentou partículas de tamanho médio menor. Tal escolha justifica-se na escolha do solvente orgânico, considerando que o experimento de condição N° 2 foi conduzido com uso de DCM e este, apresenta-se menos tóxico e mais volátil que o  $\text{CHCl}_3$ , o que favorece no processo de separação e remoção do mesmo.

### 5.1.2. Micro e Nanopartículas de PMMA produzidas via técnicas SAS

O processo de produção de partículas também foi conduzido utilizando a técnica SAS em decorrência de algumas vantagens que esta oferece sobre a técnica convencional de TES. Como foi apresentada no Capítulo II, a técnica SAS permite a produção de partículas de forma rápida, limpa e eficiente. Contudo, para se chegar a um resultado próximo a TES é necessário o conhecimento, manipulação e interação entre o sistema que se forma durante o processo de reação. Por se tratar de condições SC, as condições experimentais devem ser acima das condições SC do antissolvente, no caso  $\text{CO}_2$ , e do solvente orgânico que deve interagir diretamente formando o sistema binário  $\text{CO}_2 + \text{DCM}$ . Diversas condições foram exploradas para este sistema (Tabela 2), e considerando que o mesmo compõe um sistema ternário formado por  $\text{CO}_2 + \text{DCM} + \text{PMMA}$ , tais condições devem estar acima de qualquer ponto de transição entre o solvente orgânico e antissolvente. Consideraram as condições acima da transição líquido vapor entre  $\text{CO}_2$  e DCM. De acordo com Giufrida et al., 2014, as regiões em que ocorre somente uma fase para o

sistema binário CO<sub>2</sub> + DCM com frações variadas entre os componentes, encontra-se as temperaturas acima de 313 K e 8 MPa.

**Tabela 4** - Resultados de tamanho das amostras de partículas de PMMA produzidas por técnica de SAS e caracterizadas por análise de DLS ou contagem manual via Software.

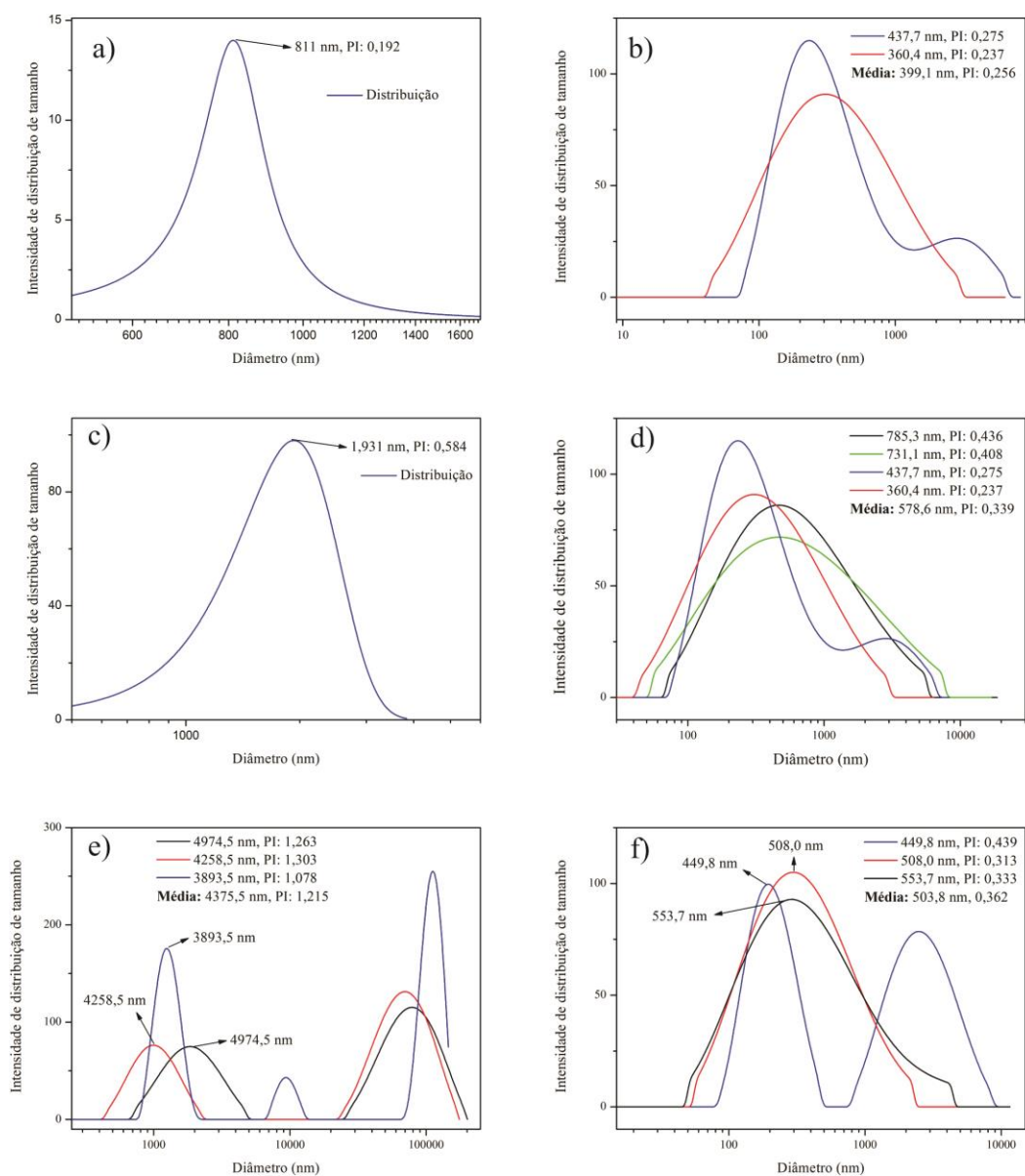
Condições	Tamanho ± Dispersão (nm)
1	811 ± 0,192
2	399,1 ± 0,256
3	1.931 ± 0,584
4	-
5	578,6 ± 0,339
6	4375,5 ± 1,215
7	-
8	-
9	-
10	-
11	-
12	-
13	-
14	-
15	-
16	-
17*	503,8 ± 0,362

\* para esta condição foi adicionado 10% de P4 em relação à massa total de PMMA.

Dente as condições experimentais exploradas para a produção micro e nanopartículas de PMMA via técnica de SAS, somente algumas obtiveram resultados consideráveis. É possível observar na Tabela 4 que somente as condições experimentais N° 1, N° 2, N° 3, N° 5, N° 6 e N° 17 mostram resultados em termos de tamanho.

O tamanho médio das amostras de partículas de PMMA produzidas nesta etapa foi caracterizado por técnica eletrônica de DLS e técnica de contagem manual com uso de software (ImageJ – 1.44p, Wayne Rasband National Institutes of Health, USA). As

contagens realizadas por software decorreu após o não sucesso de caracterização de algumas amostras em DLS. Todos os resultados em termos de tamanho médio de partículas caracterizadas nas técnicas abordadas acima são ilustrados na Figura 17.

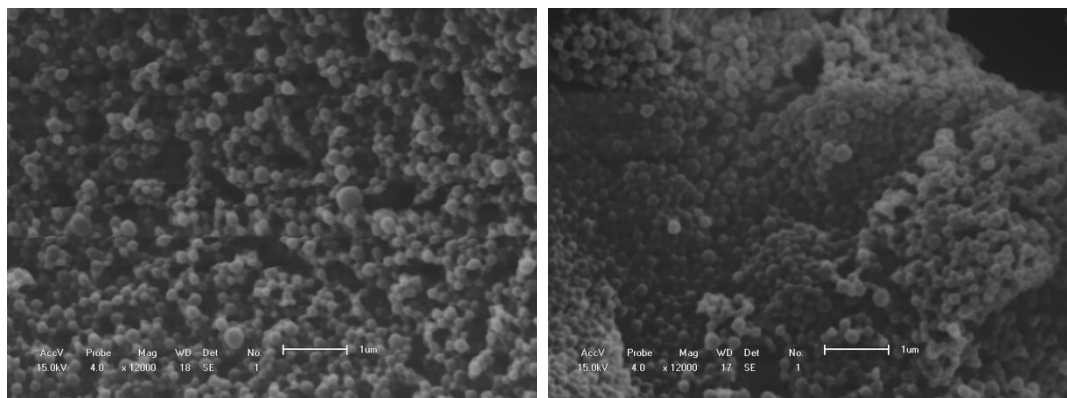


**Figura 17** – Gráficos de caracterização de distribuição de tamanho médio obtidos por contagem manual para amostras de partículas de PMMA: a) Condição N° 1 e c) Condição N° 3, e via DLS para as amostras: b) Condição N° 2, d) Condição N° 5, e) Condição N° 6 e f) Condição N° 17, todas produzidas via SAS e descritos conforme a Tabela 3.



## 5.2. Análises das partículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).

### 5.2.1. Micro e Nanopartículas de PMMA produzidas via técnicas de TES



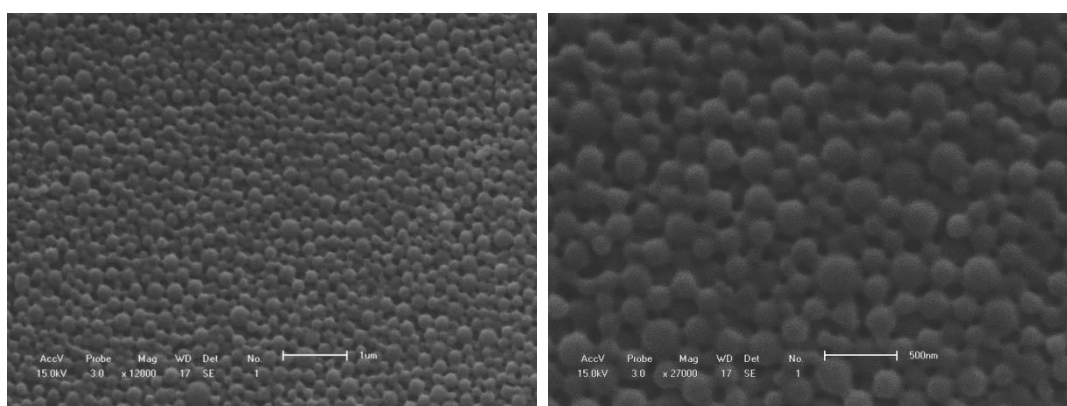
**Figura 18** – Imagens obtidas via MEV com mag. x12000 das partículas de PMMA produzidas por TES da amostra de condição N° 2.

A caracterização via MEV das partículas de PMMA produzidas por TES foram realizadas somente para as condições de N° 2 e N° 7 o qual se diferem somente na presença ou ausência de P4 e foram selecionadas conforme discutido no parágrafo anterior.

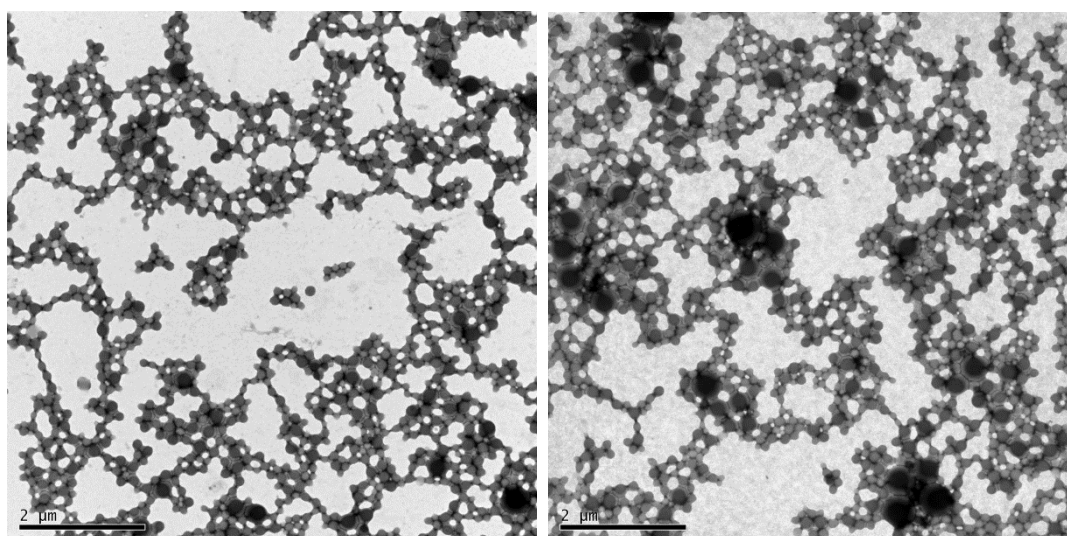
A Figura 17 mostra as características morfológicas das partículas de PMMA isentas de P4 com. O tamanho médio de  $276,0 \pm 0,163$  e a distribuição de tamanho obtido para a mesma amostra por DLS pode ser justificado diante das imagens de MEV considerando a homogeneidade das partículas em termos de morfologia e tamanho.

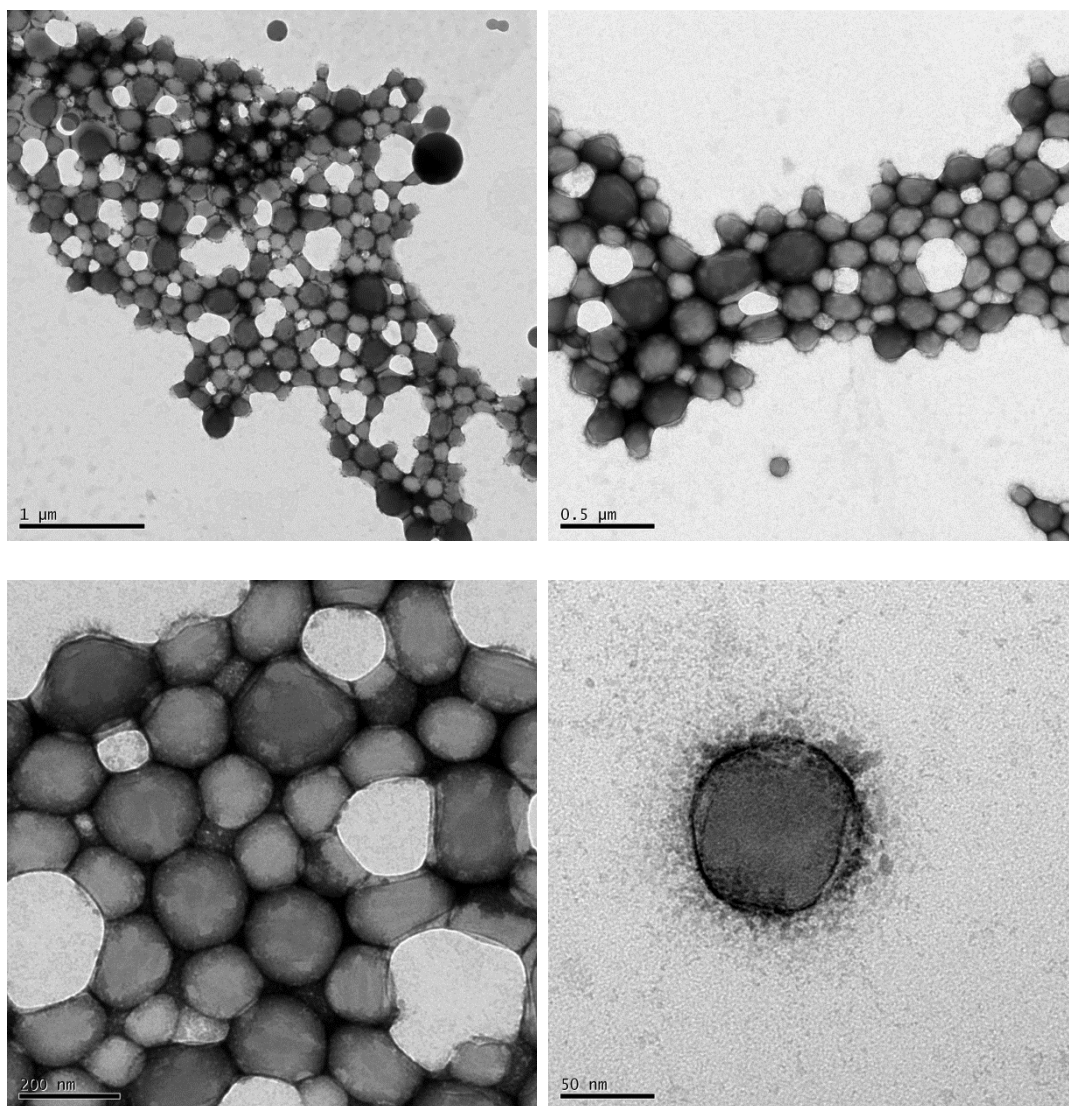
O processo de produção das matrizes poliméricas de PMMA carregadas de P4, condição N° 7, por apresentar condições experimentais idênticas a N° 2 conforme Tabela 3, mostrou-se bastante reprodutivo e valores muito aproximados em termos de tamanho médio. Nota-se na Figura 18 que as matrizes de PMMA + P4 apresentam uma melhor distribuição de tamanho entre as partículas. Para melhor visualização das características morfológicas das partículas, foram realizadas algumas análises de MET e partículas de PMMA + P4 conduzidas por TES visualizadas na Figura 19. Apesar de não ocorrido

caracterização detalhada de tamanho das partículas por MET, a disposição morfológica das mesmas apresentam boa relevância quando comparadas com a Figura 18 que equivale ao mesmo material. Poucas diferenças em termos de dispersão, tamanho e proximidade entre as partículas podem ser notadas, no entanto é preciso considerar que são processos de análises diferentes que utilizam métodos distintos de preparação da amostra, e que tais fatores também podem influenciar no resultado final.



**Figura 19** – Imagens obtidas via MEV com mag. x12000 e x27000 das partículas de PMMA produzidas por TES da amostra de condição N° 7.

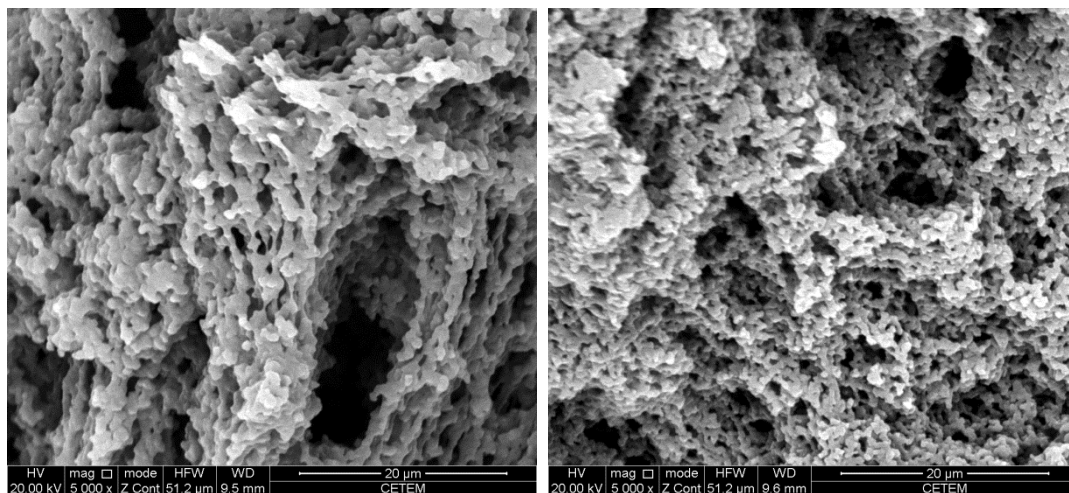




**Figura 20** – Imagens obtidas via MET das partículas de PMMA produzidas por TES da amostra de condição N° 7.

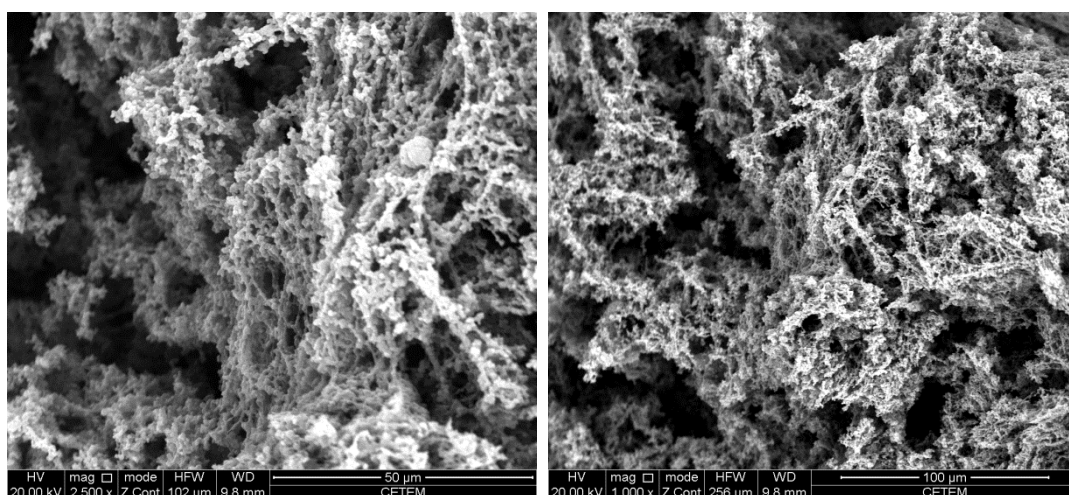
### 5.2.2. Micro e Nanopartículas de PMMA produzidas via técnicas SAS

Diante das imagens obtidas por MEV e MET para esta etapa é possível observar a presença de traços de aglomeração em grande parte das imagens. A caracterização via microscopia foi realizada para as condições experimentais o qual apresentam resultados de tamanho de partícula por DLS ou contagem manual. Os tamanhos médios de todas as amostras descritos na Tabela 4 mostram-se superiores aos valores de tamanhos médios apresentados na Tabela 3 providos do processo de produção via TES.



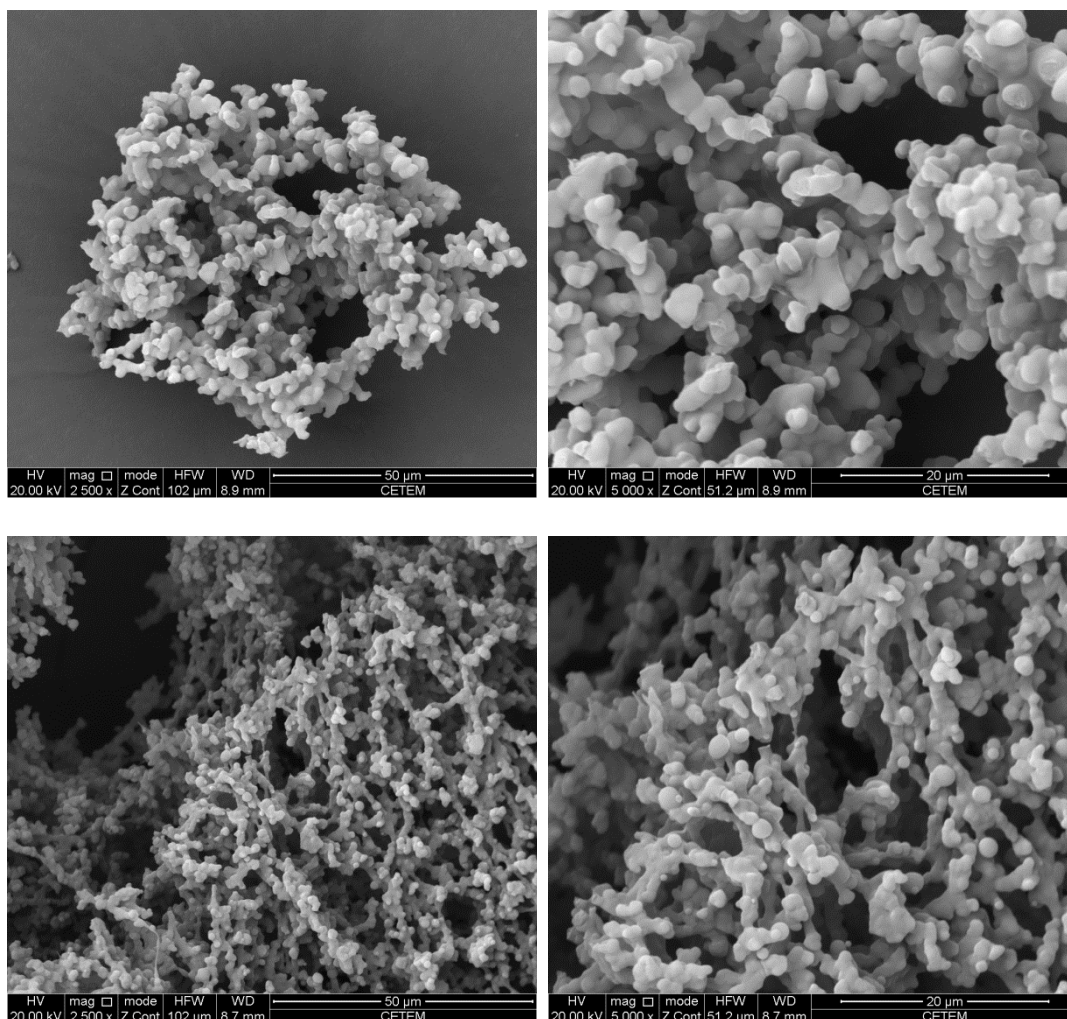
**Figura 21** - Imagens obtidas via MEV com mag. x5000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 1

A Figura 21 destaca a morfologia das partículas de PMMA obtidas na condição N° 1 da Tabela 4 de condições experimentais e correlaciona com a Figura 17 (a) que mostra um tamanho médio para estas partículas de  $811 \pm 0,192$  nm. Observando a Figura 21 é possível notar claramente que as partículas encontram-se aglomeradas entre si de modo a comprometer o aspecto morfológico das mesmas.



**Figura 22** - Imagens obtidas via MEV com mag. x5000, x2500 e x1000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 2 Imagens MEV

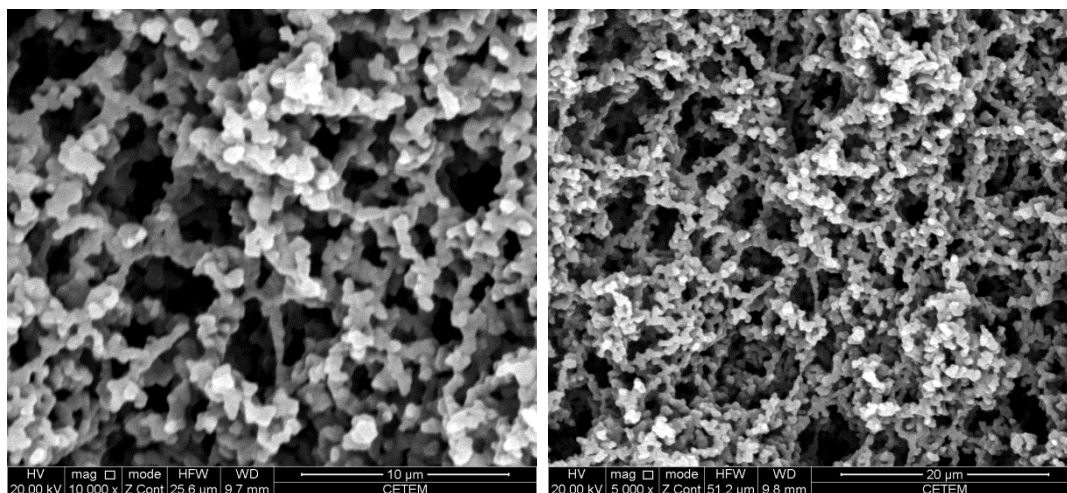
Em termos de tamanho médio, a condição N° 2 apresenta certa melhoria e tamanho médio das partículas de  $399,1 \pm 0,256$  nm, tamanho este que se aproxima mais dos resultados obtidos para TES, no entanto, as partículas também apresentam alto índice de aglomeração.



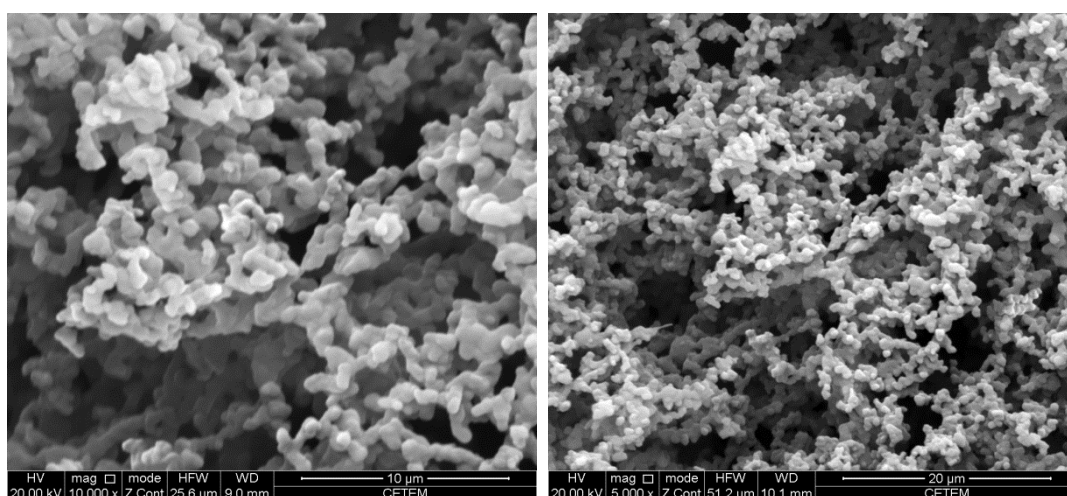
**Figura 23** - Imagens obtidas via MEV com mag. x2500 e x5000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 3

Para a condição experimental de N° 3, os resultados em termos de tamanho médio não foram muito bons conforme é mostrado na Figura 17(c) em que o tamanho médio das partículas é  $1,931 \pm 0,584$  nm. Houve uma melhoria no aspecto morfológico das partículas que nas imagens da Figura 23 apresentam-se com menores traços de aglomeração e é possível notar a presença de partículas de característica esférica. Esta melhoria em termos

morfológicos pode estar relacionada à mudança de solvente orgânico, que para esta condição foi usado DCM.



**Figura 24** - Imagens obtidas via MEV com mag. x5000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 5

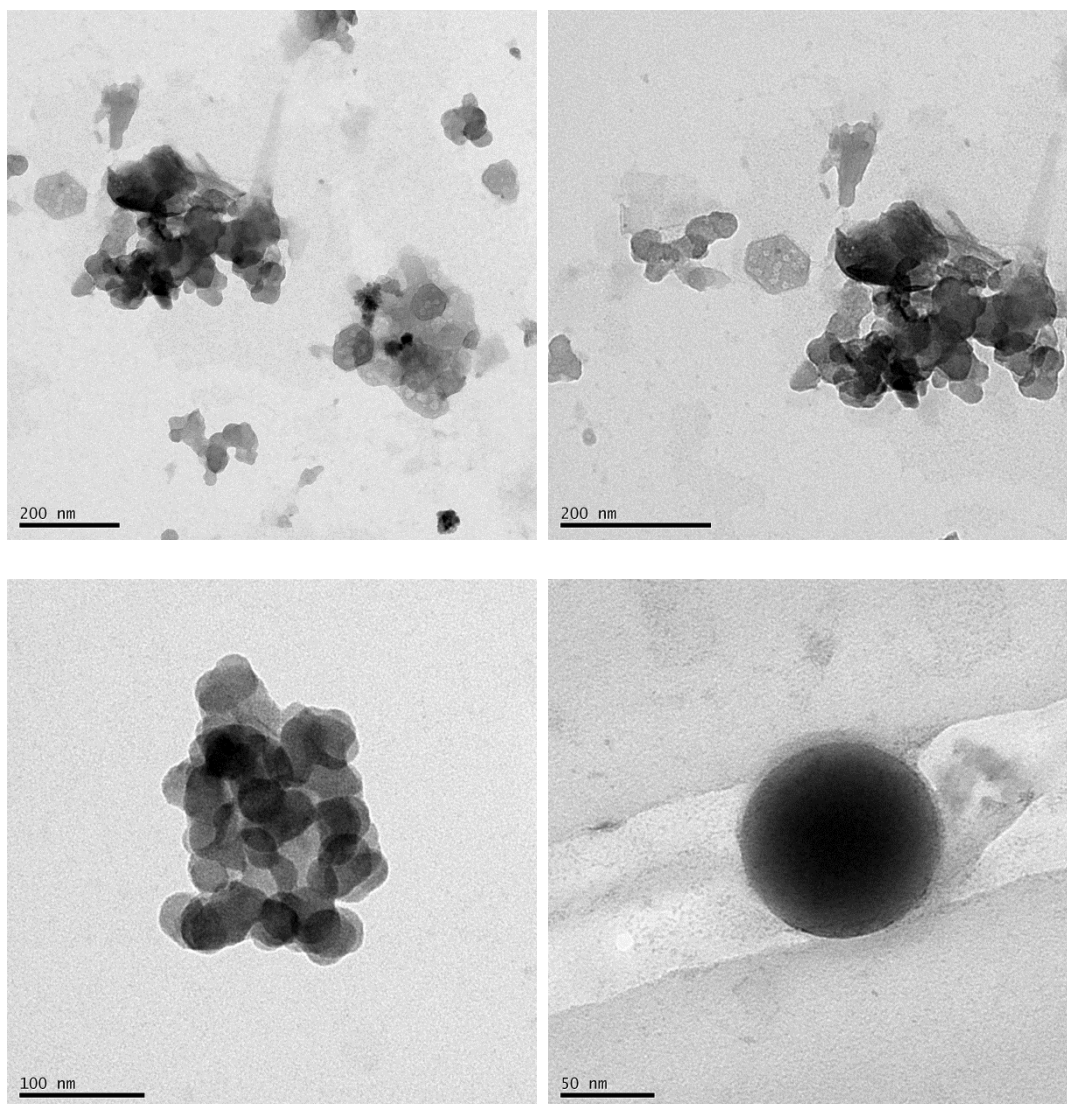


**Figura 25** - Imagens obtidas via MEV com mag. x10000 e x5000 das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 6.

Nas condições experimentais de N° 5 e N° 6, também apresentam traços de aglomeração e uma diferença muito grande entre estas condições em termos de tamanho médio das partículas. Nas duas condições ocorreu um aumento da pressão, 10,0 MPa, variou-se o solvente orgânico, para condição experimental de N° 5 utilizou-se DCM, e para



condição N° 6 utilizou-se Acetona ( $C_3H_6O$ ). Os tamanhos obtidos foram  $578,6 \pm 0,339$  nm para condição N° 5 e  $4375,5 \pm 1.215$  para condição N° 6. Em comparação com os resultados das primeiras condições e o tipo de solvente orgânico, a condição N° 6 deveria ter apresentado um tamanho médio menor para as partículas de PMMA.



**Figura 26** - Imagens obtidas via MET das partículas de PMMA produzidas por SAS da amostra de Condição N° 17.

Para produzir partículas carregadas com P4 utilizando a técnica SAS optou-se por escolher a condição experimental N° 6 considerando que esta obteve menor tamanho médio das partículas. Contudo, o experimento de N° 17 que replica a condição escolhida para inclusão de P4 resultou em um tamanho médio das partículas PMMA+P4 de  $503,8 \pm$

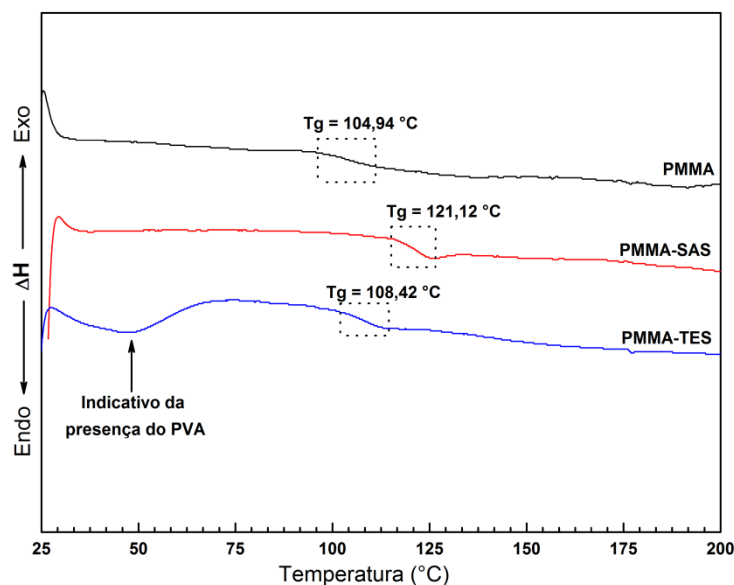
0,362, ou seja, maior que o tamanho médio das partículas obtidas em condição semelhante somente com PMMA. Este fato pode estar direcionado com o comportamento da droga durante a expansão em condições supercríticas ou outros aspectos que não foi identificado. A caracterização morfológica para a condição experimental N° 17 foi realizada via MET e pode ser visualizada na Figura 26, e sua respectiva curva de distribuição de tamanho na Figura 17 (f).

Conforme discutido neste tópico, foi possível notar que diferente das partículas de PMMA obtidas via TES, as partículas obtidas via SAS apresentaram traços de aglomeração e união/fusão entre as mesmas. Este problema vem sendo abordado em outros trabalhos do grupo, como Franceschi 2009, Pimentel 2010, e Giufrida 2013, tal processo pode estar ligado diferentes aspectos como, tipo de solvente orgânico, à alteração nas propriedades térmicas do polímero ou no rápido processo de extração do solvente orgânico seguido de secagem das partículas em condições SC, etc. Com o objetivo de esclarecer parte deste problema, análises térmicas e de potencial zeta são apresentadas nos tópicos posteriores.

### **5.3. Análises térmicas das partículas (DSC e TGA)**

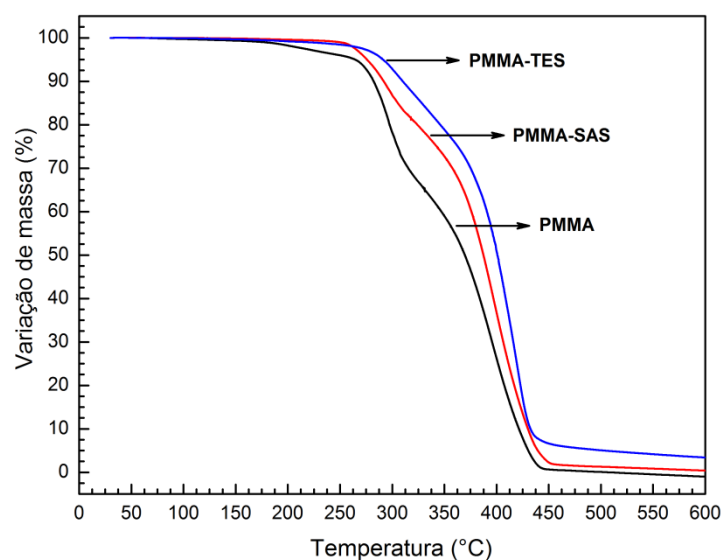
Análises de DSC foram realizadas com objetivo de avaliar se as propriedades térmicas do PMMA foram alteradas nos processos de produção das partículas. Na Figura 27 têm-se as análises de DSC do PMMA e das partículas produzidas via SAS e TES. Verificou-se mudança na temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) do PMMA, indicando que o método de produção das partículas alterou o comportamento térmico do polímero. Fatores como, peso molecular, grau de cristalinidade, grau de reticulação química do polímero, presença de plastificantes, velocidade de secagem das partículas alteram a  $T_g$  de polímeros. O PMMA utilizado ao processo via SAS teve um tipo “secagem” diferente dos PMMA utilizado no processo via TES. Além disso, a utilização do PVA no processo TES pode ter favorecido a formação de partículas de PMMA com regiões cristalinas menos resistentes termicamente. Acredita-se que o PVA possa estar atuando como um plastificante e reduzindo a  $T_g$  das partículas de PMMA.





**Figura 27** – Curvas de DSC obtidas a partir do PMMA, PMMA-SAS e PMMA-TES.

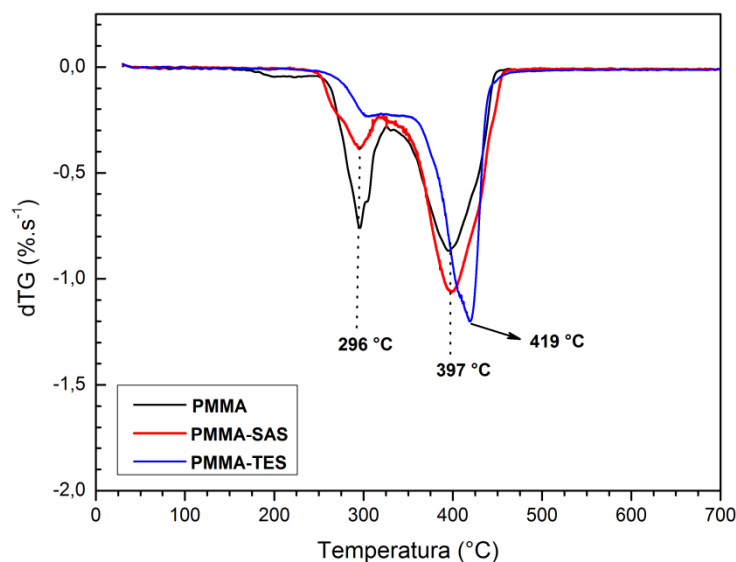
Com a finalidade de complementar as análises por DSC, foram realizadas TGA do PMMA e das partículas de PMMA-SAS e PMMA-TES (Figura 28). Pelos termogramas evidenciamos que as partículas PMMA-TES possuem maior resistência térmica que as partículas PMMA-SAS.



**Figura 28** – Dados das análises termogravimétricas do PMMA e das partículas de PMMA-SAS e PMMA-TES.

Na Figura 29, o PMMA e as partículas de PMMA-SAS possuem as maiores velocidades de perda de massa em 296 °C e 397 °C. Também foi possível verificar pelas curvas de dTG que as partículas obtidas via TES foram mais resistente à degradação uma

vez que a taxa mais elevada de degradação ocorreu em 419 °C. É interessante enfatizar ainda que, embora as partículas obtidas via TES apresente uma Tg de 108,42 °C, inferior às partículas obtidas via SAS, sua resistência à degradação térmica foi superior.



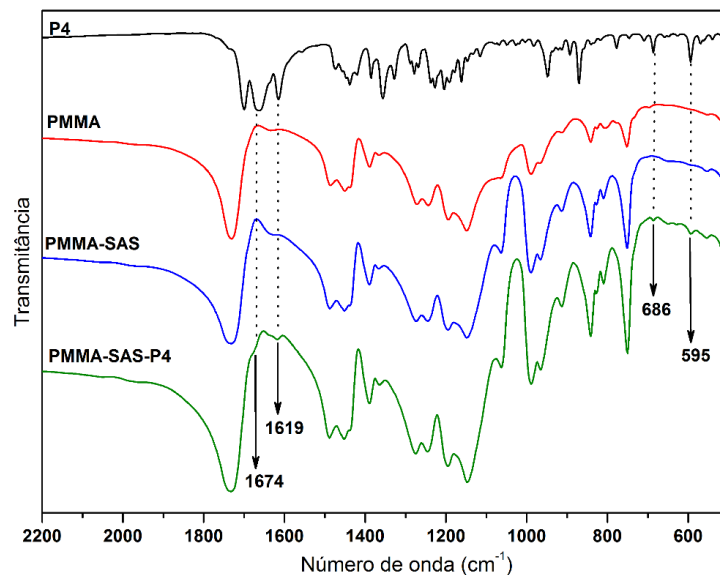
**Figura 29** - Curvas de dTG para amostras de PMMA, partículas de PMMA-SAS e PMMA-TES

#### 5.4. Análises das partículas por espectroscopia no infravermelho (FT-IR)

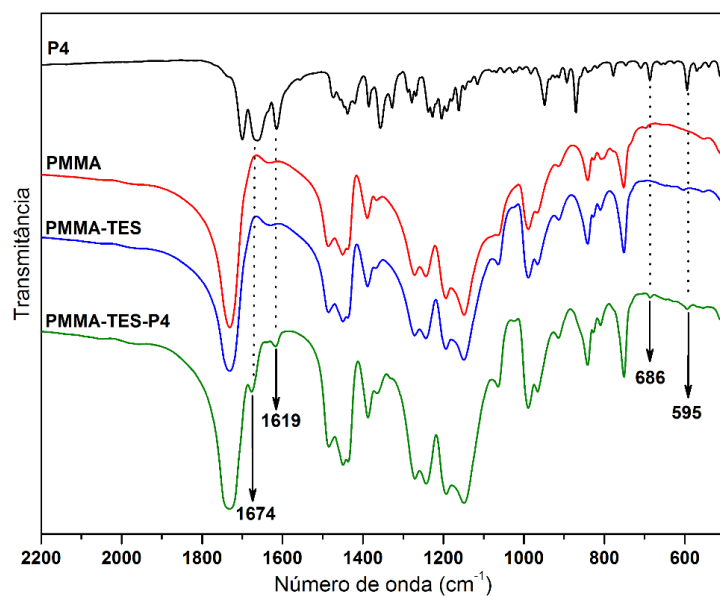
Análises por FT-IR, foram realizadas com intuito de avaliar se a integridade química do PMMA foi preservada quando submetido aos processos de produção (SAS e TES) das partículas. Além da avaliação do PMMA nas partículas, as análises por FT-IR possibilitou investigar se as moléculas de P4 foram incorporadas (escapulas e/ou impregnadas) às partículas produzidas por SAS e TES.

Na Figura 30 têm-se os espectros de FT-IR da P4, PMMA e das partículas de PMMA-SAS e PMMA-SAS-P4. Pela semelhança dos espectros do PMMA e PMMA-SAS (sem P4), pode-se deduzir que o processo de produção das partículas via SAS não provocou alterações na constituição químicas do PMMA. Além disso, verificou-se no espectro da PMMA-SAS-P4 discretos sinais em 1674, 1619, 686, 595  $\text{cm}^{-1}$  que foram atribuídos à molécula de P4. Estes sinais caracterizam a presença da P4 nas partículas e

confirma o carregamento ou encapsulamento da “molécula modelo” pelo polímero PMMA pelo SAS.



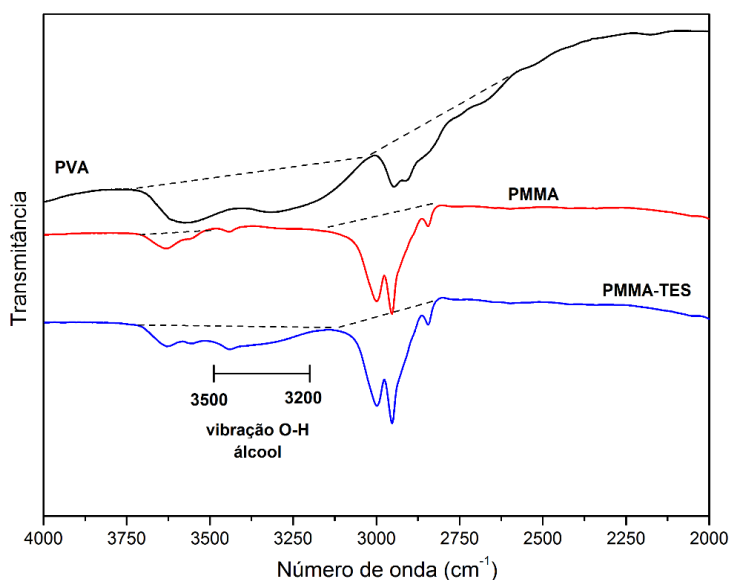
**Figura 30** – Espectros de FT-IR da P4, do PMMA e das partículas de PMMA-SAS e PMMA-SAS-P4.



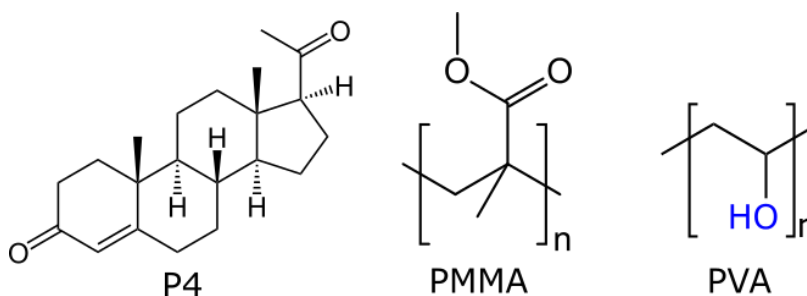
**Figura 31**- Espectros de FT-IR da P4, do PMMA e das partículas de PMMA-TES e PMMA-TES-P4.

Análises equivalentes também foram realizadas para as partículas produzidas via TES (Figura 31). Os resultados encontrados foram semelhantes tanto no que diz respeito à alteração química do PMMA como o critério de encapsulamento da P4 pelo polímero. No entanto, uma banda alargada foi observada no espectro de PMMA-TES-P4 na região de 3500 a 3200  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 32).

Banda alargada nesta região do espectro geralmente está relacionada às frequências vibracionais de ligações O-H de álcoois. Como as estruturas químicas do PMMA e da P4 não possuem grupos O-H (Figura 33) infere-se que o sinal seja proveniente do PVA utilizado como emulsificante no processo TES. A presença do PVA nas partículas de PMMA-TES-P4 também foram evidenciadas nas análises de DSC.



**Figura 32** - Espectros de FT-IR do PVA, PMMA e das partículas de PMMA-TES. Banda alargada na região de 3500 a 3200  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuída às vibrações de grupo O-H de álcoois.

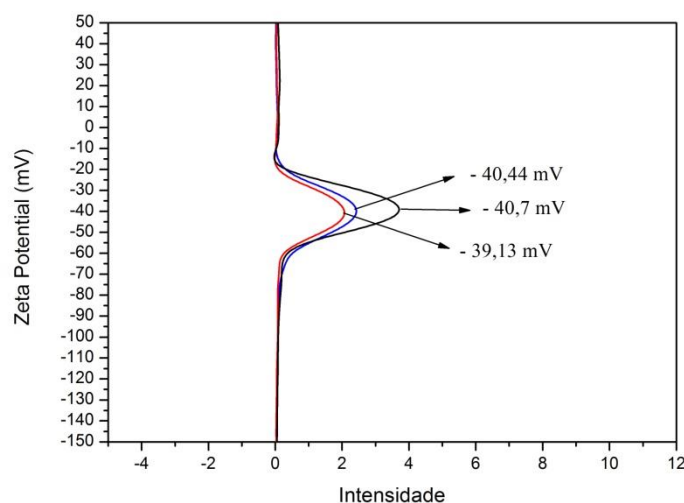


**Figura 33** - Esquemas das estruturas químicas do P4, PMMA e PVA.

### 5.5. Análise de Potencial Zeta

Quase todos os materiais macroscópicos ou particulados em contato com um líquido adquirem uma carga elétrica em sua superfície. Essa carga pode aparecer de várias maneiras - a dissociação de grupos ionogênicos na superfície da partícula e a adsorção diferencial de íons da solução na superfície da partícula. A carga líquida na superfície da partícula afeta a distribuição de íons na sua vizinhança, aumentando a concentração de contraíons junto à superfície. Assim, forma-se uma dupla camada elétrica na interface da partícula com o líquido (MARTINS et al., 2007).

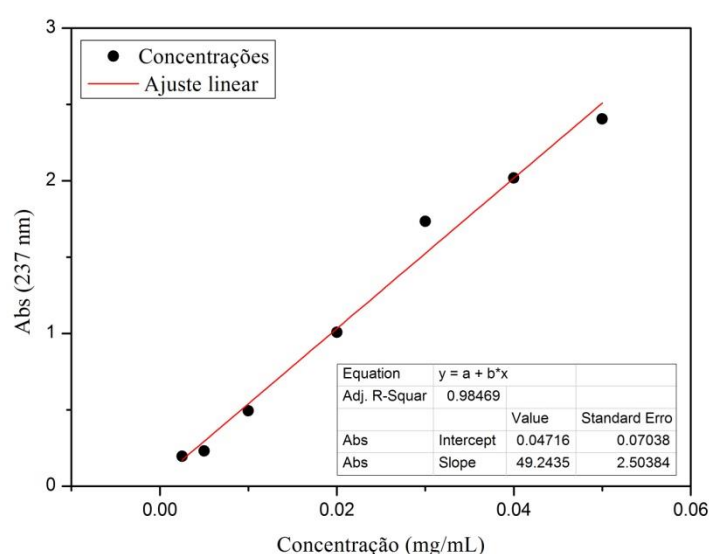
O PMMA e a maioria dos polímeros normalmente são neutros, no entanto em algum estágio do processo de expansão e secagem via SAS as partículas poliméricas de PMMA estão adquirindo cargas elétricas que dificultam o processo de dispersão das mesmas de modo a impossibilitar a realização de análise de DLS. Para tanto, foi realizada uma análise de potencial zeta que identifica um índice de cargas elétricas igual a  $-40$  mV nas partículas de PMMA (Figura 34).



**Figura 34** – Determinação do potencial zeta de partículas de PMMA produzidas via SAS.

### 5.6. Avaliação da Eficiência do Encapsulamento (EE%)

As medidas de EE% para as micro e nanopartículas e PMMA+P4 obtidas no método SAS (PMMA-SAS-P4) e TES (PMMA-TES-P4) foram calculadas e quantificadas com base nos valores de comprimento de onda obtidos em espectro UV-vis e sequencialmente convertidos em concentração de mg/mL utilizando a equação da reta originária da curva de calibração do P4 em de etanol (Figura 35).



**Figura 35** - Curva de calibração de P4 em solução Etanol.

Os valores três valores da triplicata foram calculados pela equação (1) onde  $C_e$  é a concentração experimental obtida após extração da massa de P4 carregada nas nanopartículas de PMMA e  $C_t$  é a concentração teórica estabelecida durante a preparação do sistema matricial carregado de fármaco. Posteriormente foi feito o cálculo simples da média dos respectivos valores de EE% que são descritos na Tabela 5.

$$EE\% = \frac{C_e}{C_t} \times 100\% \quad (1)$$

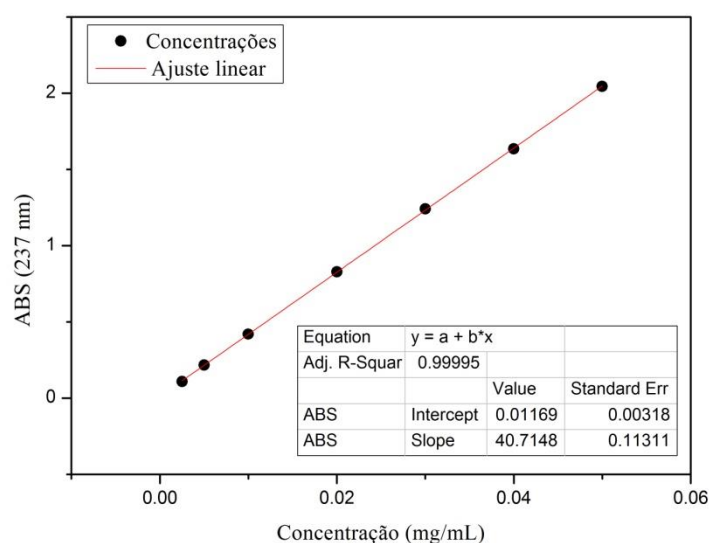
**Tabela 5** – Resultados obtidos nos ensaios de EE%...

Amostras	Massa	EE%
PMMA-TES-P4		85,01 %
PMMA-SAS-P4		30,26 %

O baixo rendimento caracterizado no ensaio de EE% decorre da moderada solubilidade do P4 e de seus derivados em CO<sub>2</sub>SC como pode ser observado no trabalho de Asghari-Khiavi et al., 2013. Durante o processo de precipitação do PMMA+P4 em condições supercríticas em função do carregamento do solvente orgânico, no caso acetona, ocorre também uma leve solubilização do P4 que é carregado juntamente com a mistura CO<sub>2</sub>SC+Acetona.

### **5.7. Estudos “*in vitro*” da liberação da P4 a partir das partículas de PMMA**

A determinação da curva de liberação do P4 contido nas matrizes de PMMA para as amostras PMMA-TES-P4 e PMMA-SAS-P4 foram conduzidas em meio hidroalcoólico. Os valores estão em função da absorbância para o comprimento de onda igual a 237 nm. Para determinação da quantidade de P4 liberada em função do tempo durante os ensaios de liberação, foi construída uma curva de calibração de P4 em solução hidroalcoólica (Figura 36).

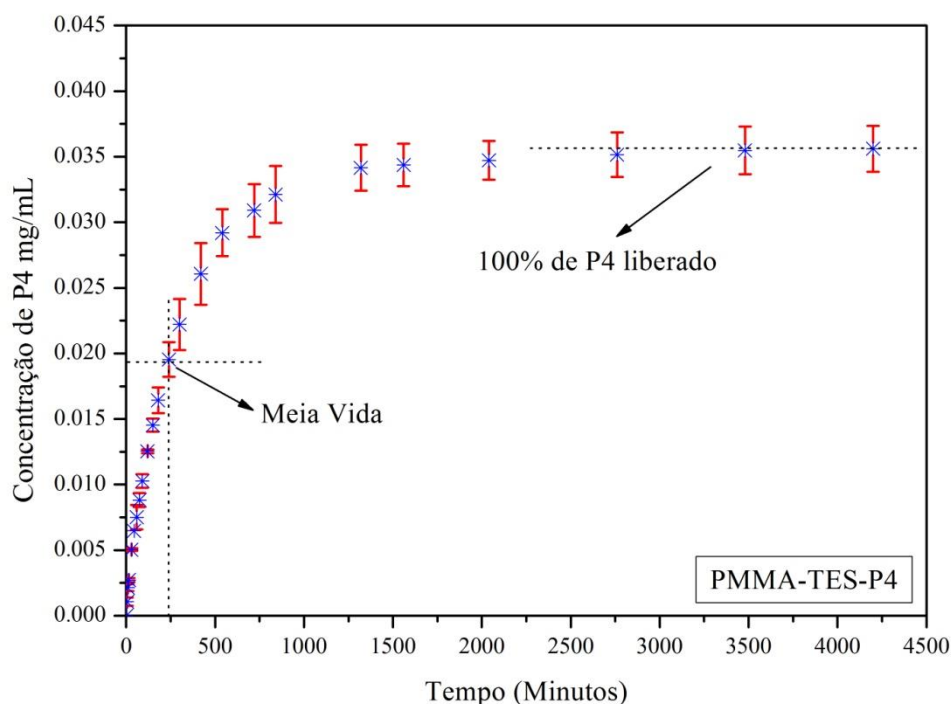


**Figura 36** - Curva de calibração de P4 em solução Etanol.

Os resultados pertencentes ao ensaio de liberação “*in vitro*” para as nanopartículas de PMMA-*TES*-P4 e PMMA-*SAS*-P4 foram analisados em termos de acumulo de concentração de P4 em mg/mL de solução. Foi possível observar que ocorre processo de difusão em função da não solubilidade do PMMA em solução hidroalcoólica.

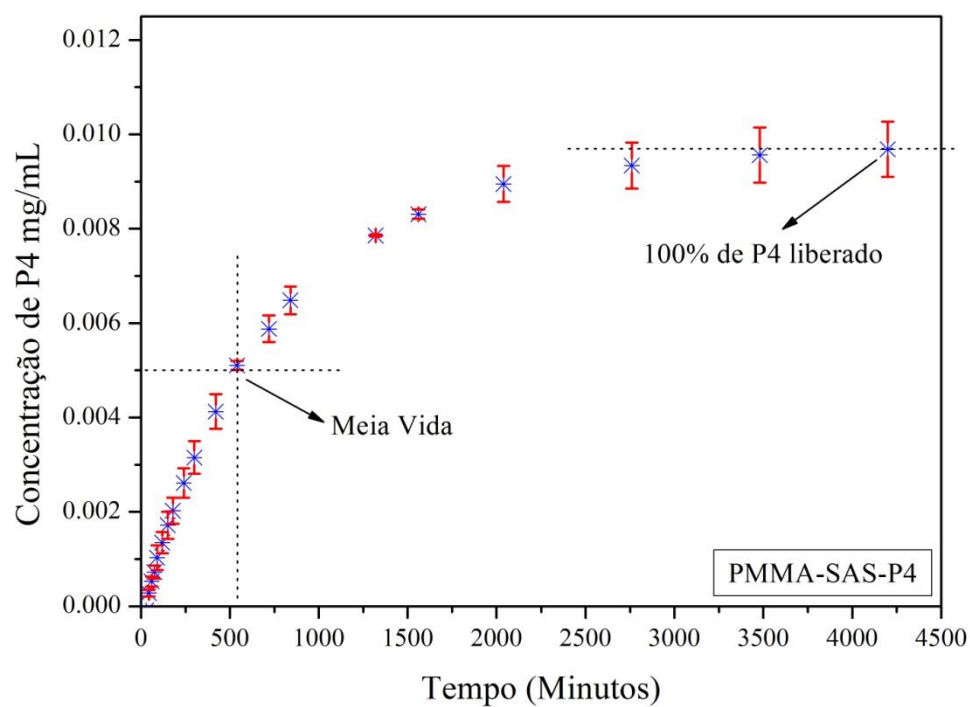
O perfil de liberação para as duas amostras produzidas em diferentes técnicas (*TES* e *SAS*) apresentaram uma tendência de cinética de liberação parecida, porém, taxas de liberação de P4 um pouco diferenciadas em termos de concentração/tempo. Interpretando a Figura 37 que corresponde à cinética de liberação da amostra PMMA-*TES*-P4 nota-se que o tempo de meia vida para a liberação do ativo ocorreu em aproximadamente 200 min (03h e 20min), ou seja, neste tempo aproximadamente 0,019 mg/mL de P4 foi transferido da matriz para o meio externo hidroalcoólico, e que no tempo de 2760 min (46 horas), 0,035 mg/mL do ativo foi liberado. Considerando que nos ensaios de EE% das partículas PMMA-*TES*-P4 foram extraídos em torno de 0,030 mg/mL de P4 das matrizes, entende-se que 100% de P4 foi liberado ao final da cinética de liberação.





**Figura 37** – Cinética de liberação *in vitro* das partículas PMMA-TES-P4 e meio hidroalcoólico

O perfil de liberação de P4 carregado em partículas PMMA-SAS-P4, conforme descrito anteriormente, apresenta um comportamento um pouco diferente em relação a concentração de P4 acumulada (mg/mL) durante o tempo decorrido de ensaio. A quantidade de droga acumulada para neste caso foi menor o que condiz com os valores de EE% aqui mostrados. Nesta cinética (Figura 38) o tempo de meia vida para a liberação da droga ocorreu em 540 min (9 horas), ou seja, neste tempo aproximadamente 0,005 mg/mL de P4 havia sido transferido da matriz para o meio externo hidroalcoólico, e que no tempo de 4200 min (70 horas), 0,01 mg/mL de ativo já havia sido liberado. De acordo com a quantificação obtida no ensaio de EE%, 0,01 mg/mL corresponde aproximadamente aos 30,26% de EE%, ou seja, 100% da droga contida nas matrizes de PMMA-SAS foram liberadas durante o teste de liberação.



**Figura 38** – Cinética de liberação *in vitro* das partículas PMMA-SAS-P4 e meio hidro-alcoólico.

## 6. CONCLUSÕES

A nanotecnologia vem contribuindo de forma significativa na produção de sistemas de liberação modificada de diversas substâncias ativas. Sistemas poliméricos em escalas de micro e nanométricas desempenham papéis fundamentais no direcionamento de melhores respostas na liberação de substâncias ativas. O objetivo deste trabalho foi produzir micro e nanopartículas de PMMA com intuito de se produzir um sistema de liberação modificado de moléculas lipofílicas.

Ambas as técnicas de produção de partículas (SAS e TES) proporcionaram a obtenção de matrizes poliméricas em escalas micro e nanométricas. Contudo a técnica de TES mostrou-se mais adequada a obtenção de partículas de tamanhos médios menores, sendo estas na ordem de  $268,7 \pm 0,090$  nm, enquanto no método SAS o menor tamanho médio de partículas obtido foi de  $399,1 \pm 0,256$  nm. No entanto o método SAS oferece diversas qualidades promissoras a um sistema eficiente de produção de partículas, como rápido processo de expansão e secagem em única etapa.

O polímero PMMA apresenta excelentes propriedades químicas e térmicas que diante das análises termogravimétrica (DSC e TGA), foi possível comprovar que o mesmo não sofreu nenhuma alteração perante as condições experimentais determinadas durante o processo de produção.

Para os estudos de avaliação das micro e nanopartículas de PMMA carregadas de P4 e que foram conduzidas em função das condições experimentais selecionadas nos métodos TES e SAS, os ensaios de EE% mostraram uma grande diferença de eficiência entre os dois métodos, pois o método TES resultou em uma EE% de 85,01 % enquanto no método SAS obteve-se 30,26 % de EE%. Isso pode ser justificado pela baixa solubilidade do P4 em CO<sub>2</sub>SC. Mesmo o processo de precipitação do polímero ocorrendo em uma região de transição de fases abaixo da região de solubilidade do P4 em CO<sub>2</sub>SC, certa quantidade da droga é transferida para a mistura residual CO<sub>2</sub>SC+solvente.

No entanto os estudos de cinética de liberação “*in vitro*” mostraram que a micro e as nanopartículas de PMMA+P4 produzidas pelas duas técnicas distintas proporcionaram um sistema de liberação modificada com uma cinética de liberação favorável aplicação em moléculas de característica lipofílicas. Apesar das partículas carregadas com P4 via SAS

terem apresentado menor potencial de EE%, a cinética de liberação das mesmas mostrou um perfil de sustentação mais equilibrada perante o acúmulo percentual de P4 em função do tempo. Em ambas as curvas de cinética de liberação o término da taxa de acúmulo de P4 iniciou a partir de 3000 min (50 h.).

Pode-se considerar também que o processo de liberação do P4 a partir da matriz polimérica de PMMA ocorreu em função do processo de difusão, considerando que não houve solubilização das mesmas, e que a concentração do ativo na solução aumentou gradativamente em função do tempo.

Conforme os resultados obtidos nesse estudo as matrizes poliméricas de PMMA produzidas demonstram um excelente potencial de liberação modificada, o qual pode ter aplicabilidade em diversos setores como agrícola, alimentício e farmacêutico.

## 7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Diante dos resultados obtidos na realização deste trabalho, assim como o conhecimento adquirido no desenvolvimento do estudo, podem-se sugerir os seguintes trabalhos a serem desenvolvidos:

- Conduzir novos experimentos com método SAS com diferentes condições não exploradas neste trabalho para a obtenção de micro e nanopartículas de PMMA de modo que estas apresentem melhores resultados de tamanho médio, distribuição de tamanho e morfologia.
- Buscar novos métodos para dispersão das partículas de PMMA produzidas via SAS em solução aquosa para que estas sejam facilmente analisadas em técnica de DLS para determinação de tamanho e distribuição de tamanho, considerando que este foi dos obstáculos deste trabalho.
- Aplicar modelo matemático ajustável a cinética de liberação *in vitro* para as micro e nanopartículas de PMMA carregadas de P4.
- Realizar estudos de avaliação *in vitro* da biocompatibilidade dos materiais PMMA e P4 via teste de citotoxicidade.
- Testar a matriz de PMMA com ativos utilizados na área agrícola com características lipofílicas idênticas a molécula da progesterona.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABATE, Adam R.; THIELE, Julian; WEITZ, David A. One-step formation of multiple emulsions in microfluidics. **Lab on a Chip**, v. 11, n. 2, p. 253-258, 2011.
- ABDELRASOUL, Gaser N. et al. Nanocomposite scaffold fabrication by incorporating gold nanoparticles into biodegradable polymer matrix: Synthesis, characterization, and photothermal effect. **Materials Science and Engineering: C**, v. 56, p. 305-310, 2015.
- AGRAWAL, Shweta; RATHORE, Pragya. Nanotechnology pros and cons to agriculture: A review. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci**, v. 3, n. 3, p. 43-55, 2014.
- ALVES, Oswaldo Luiz. Nanotecnologia e desenvolvimento. **Instituto de Química UNICAMP, São Paulo, Disponível em [http://lqes.iqm.unicamp.br/images/pontos\\_vistaartigo\\_divulgacao\\_351nanotecnologia\\_desenvolvimento.pdf](http://lqes.iqm.unicamp.br/images/pontos_vistaartigo_divulgacao_351nanotecnologia_desenvolvimento.pdf). Acesso em**, v. 3, 2005.
- AMENTA, Valeria et al. Regulatory aspects of nanotechnology in the agri/feed/food sector in EU and non-EU countries. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 73, n. 1, p. 463-476, 2015.
- ASSIS, Letícia Marques de et al. Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology, Campinas**, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.
- ASSIS, Odilio Benedito Garrido; MARCONCINI, José Manoel; MATTOSO, Luiz Henrique Capparelli. Oportunidades de formação em nanotecnologia para atuação em ciências agrícolas e na produção de alimentos. **Revista de Ensino de Engenharia**, v. 34, n. 1, 2015.
- ASUA, José M. Emulsion polymerization: from fundamental mechanisms to process developments. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 42, n. 5, p. 1025-1041, 2004.
- BARBA, Anna Angela et al. Biocompatible nano-micro-particles by solvent evaporation from multiple emulsions technique. **Journal of Materials Science**, v. 49, n. 14, p. 5160-5170, 2014.
- BARBOSA, Catarina Inês Oliveira Gama Nunes. Novas formas farmacêuticas para uso veterinário. **Monografia. Universidade Fernando Pessoa**. 2010.
- BARROS, Alexandre A. et al. Ketoprofen-eluting biodegradable ureteral stents by CO<sub>2</sub> impregnation: In vitro study. **International journal of pharmaceutics**, v. 495, n. 2, p. 651-659, 2015.
- BESTETI, Marina Damião. Produção e caracterização de partículas casca-núcleo obtidas pela polimerização simultânea em suspensão e emulsão. **Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro**. 2009.

- CALDEIRA, Denise Ferreira. Viabilidade dos espermatozoides bovinos após exposição a nanopartículas de maghemita recobertas com DMSA. **Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília**, 2011.
- CAMPOS, Estefânia Vangelie Ramos et al. Polymeric and solid lipid nanoparticles for sustained release of carbendazim and tebuconazole in agricultural applications. **Scientific reports**, v. 5, 2015.
- CARDOSO, F. A. R. et al. A model for precipitation of sub-micrometric particles of PHBV poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by supercritical assisted-atomization. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 97, p. 88-99, 2015.
- CARNIEL, BEATRIZ DE FARIA. Avaliação de impactos ambientais e sociais do uso da nanotecnologia na agricultura: uma proposta metodológica. **DISSERTAÇÃO DA UNIVERSIDADE DE SÃO CARLOS**, 2013.
- CAVALCANTI, Washington Moreira; SOARES, Christianne Lacerda. Micro e nano manufatura: **Uma Revisão de Literatura, Universidade Federal de Minas Gerais**, 2013.
- CHERN, C. S. Emulsion polymerization mechanisms and kinetics. **Progress in polymer science**, v. 31, n. 5, p. 443-486, 2006.
- COIMBRA, Patrícia Manuela Almeida. Preparação e caracterização de sistemas de liberação controlada de fármacos com base em polímeros de origem natural. **Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra**. 2010.
- DASGUPTA, Nandita et al. Nanotechnology in agro-food: from field to plate. **Food Research International**, v. 69, p. 381-400, 2015.
- DE AZEREDO, Henriette Monteiro Cordeiro; FURTADO, Roselayne Ferro; DE FREITAS ROSA, Morsyleide. Aplicação da nanotecnologia em embalagens de alimentos. **Alimentos**, p. 287. 2012.
- DE ENGENHARIA QUÍMICA, Programa. Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 17, n. 2, p. 166-179, 2007.
- DE MARCO, I. et al. Control of particle size, at micrometric and nanometric range, using supercritical antisolvent precipitation from solvent mixtures: Application to PVP. **Chemical Engineering Journal**, v. 273, p. 344-352, 2015.
- DE PAIVA BASTOS, Ricardo Martins. Nanotecnologia: uma revolução no desenvolvimento de novos produtos. **Tese de Doutorado. UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**. 2006.
- DELGADO, Jorge Miguel Ferreira. Preparação e caracterização de nanotransportadores (nanocápsulas, nanoesferas, lipossomas e transportadores lipídicos nanoestruturados) sem substância ativa. **Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Tecnologia e Gestão Instituto Politécnico de Bragança**, 2013.

- DIMER, Frantiescoli Anversa et al. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Química nova. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 1978-. Vol. 36, n. 10,(2013), p. 1520-1526, 2013.**
- DJERAFI, R. et al. Supercritical anti-solvent precipitation of ethyl cellulose. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 105, p. 92-98, 2015.
- ENEJDER, Annika et al. Chemical release from single-PMMA microparticles monitored by CARS microscopy. In: **SPIE BiOS**. International Society for Optics and Photonics., p. 79030S-79030S-8, 2011.
- ESTEVEVES, Ana Catarina C.; BARROS-TIMMONS, Ana; TRINDADE, Tito. Nanocompósitos de matriz polimérica: estratégias de síntese de materiais híbridos. **Química Nova**, v. 27, p. 798-806, 2004.
- FARAJI, Amir H.; WIPF, Peter. Nanoparticles in cellular drug delivery. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 17, n. 8, p. 2950-2962, 2009.
- FERREIRA, Carina Torres Garruth; RIBEIRO, Ana Ferreira. Nanopartículas poliméricas para inclusão de compostos de origem natural. **Base de Trabalhos de Conclusão de Curso-IFRJ-Campus Realengo**, v. 1, n. 1, 2014.
- FERREIRA, Hadma Sousa. Desenvolvimento de catalisadores de ouro para o abatimento de monóxido de carbono. 2009.
- FEUSER, Paulo E. et al. Synthesis and characterization of poly (methyl methacrylate) PMMA and evaluation of cytotoxicity for biomedical application. In: **Macromolecular Symposia**. p. 65-69.2014.
- FRACETO, Fernandes Leonardo. Et al. Uma solução em potencial para os problemas da agricultura. **Universidade Estado Paulista**. 2015.
- FRANCESCHI, E. Precipitação e encapsulamento de  $\beta$ -caroteno em PHBV empregando tecnologia supercrítica. Tese de Doutorado. **Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina**. Florianópolis, SC – Brasil. 2009.
- FURLANETTO, Fernanda. Nanotecnologia no setor agropecuário. **Pesquisa e Tecnologia, São Paulo**, n. 69. 2011.
- GASPAR, Hugo et al. Enhanced thermal stability of poly (methyl methacrylate) composites with fullerenes. **Polymer Bulletin**, v. 72, n. 7, p. 1775-1786, 2015.
- GIUFRIDA, W. M. et al. Liquid–vapor equilibrium data of CO<sub>2</sub>+ dichloromethane+ medroxyprogesterone system. **Fluid Phase Equilibria**, v. 362, p. 307-312, 2014.
- GIUFRIDA, Willyan Machado Giufrida. Micro e nanopartículas biodegradáveis para a liberação controlada de esteroides em bovinos. **Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Maringá**, 2013.
- GOMES, Rafaela Cardoso et al. Aplicações da nanotecnologia na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 9, n. 1, p. 1-8, 2015.



- GUILHERME, Marcos R. et al. Polycaprolactone nanoparticles containing encapsulated progesterone prepared using a scCO<sub>2</sub> emulsion drying technique. **Materials Letters**, v. 124, p. 197-200, 2014.
- GUILHERME, Marcos R. et al. Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review. **European Polymer Journal**, v. 72, p. 365-385, 2015.
- HAMIDI, Mehrdad; AZADI, Amir; RAFIEI, Pedram. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. **Advanced drug delivery reviews**, v. 60, n. 15, p. 1638-1649, 2008.
- HANDFORD, Caroline E. et al. Awareness and attitudes towards the emerging use of nanotechnology in the agri-food sector. **Food Control**, v. 57, p. 24-34, 2015.
- HELAL, Nesreen Ahmed Sabry. Nanotechnology in agriculture: A review. **Poljoprivreda i Sumarstvo**, v. 59, n. 1, p. 117, 2013.
- INVERNIZZI, Noela et al. Nanotechnology for social needs: contributions from Latin American research in the areas of health, energy and water. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 17, n. 5, p. 1-19, 2015.
- JUNEJA, Ridhima; ROY, Indrajit. Surface modified PMMA nanoparticles with tunable drug release and cellular uptake. **RSC Advances**, v. 4, n. 84, p. 44472-44479, 2014.
- LEIMANN, F. V. Nanopartículas híbridas de polímero natural (PHBV)/polímero sintético. **Tese de Doutorado. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis**. 2011.
- LEIMANN, Fernanda Vitória et al. Characterization of progesterone loaded biodegradable blend polymeric nanoparticles. **Ciência Rural**, v. 45, n. 11, p. 2082-2088, 2015.
- LLOYD, David M.; NORTON, Ian T.; SPYROPOULOS, Fotis. Process optimisation of rotating membrane emulsification through the study of surfactant dispersions. **Journal of Food Engineering**, v. 166, p. 316-324, 2015.
- MARCATO, Priscyla DD. Preparação, caracterização e aplicações em fármacos e cosméticos de nanopartículas lipídicas sólidas. **Revista eletrônica de farmácia**, v. 6, n. 2, 2009.
- MARTÍN, Víctor et al. Titanium dioxide nanoparticle coating in fluidized bed via supercritical anti-solvent process (SAS). **Chemical Engineering Journal**, v. 279, p. 425-432, 2015.
- MARTINS, Lemyr. Estudo da flotação de minério silicatado de zinco sem a etapa de deslamagem. 2007.
- MATTOSO, Luiz HC; MEDEIROS, Eliton S. de; MARTIN NETO, Ladislau. A revolução nanotecnológica e o potencial para o agronegócio. **Revista de Política Agrícola**, v. 14, n. 4, p. 38-46, 2005.

- MEIRA, Marilena; SILVA, Cliciane Lago; LEAL FILHO, Josafat Ribeiro. Prospecção tecnológica de patentes para o desenvolvimento de nanocompósitos de matriz polimérica. **Cadernos de Prospecção**, v. 8, n. 1, p. 48, 2015.
- MENG, Yuan; SU, Fenghua; CHEN, Yangzhi. A Novel Nanomaterial of Graphene Oxide Dotted with Ni Nanoparticles Produced by Supercritical CO<sub>2</sub>-Assisted Deposition for Reducing Friction and Wear. **ACS applied materials & interfaces**, v. 7, n. 21, p. 11604-11612, 2015.
- MIGUEZ, Patrícia Helena Paiva. Cinética de liberação de progesterona em dispositivos confeccionados a partir de blendas com PCL (Poli-ε-caprolactona)+ PHB (Poli-hidroxi-butilato). **Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo**. 2011.
- MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International journal of pharmaceutics**, v. 385, n. 1, p. 113-142, 2010.
- NGUYEN, Minh-Hiep et al. Evaluation of penetration of nanocarriers into red pepper leaf using confocal laser scanning microscopy. **Crop Protection**, v. 66, p. 61-66, 2014.
- PELLICANO, Marília. Desenvolvimento e caracterização de blendas PHBV/Ecoflex e suas modificações com amidos. **Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos**. 2010.
- PEREIRA, Thereza Mylene de Moura. Caracterização térmica (TG/DTG, DTA, DSC, DSC-fotovisual) de Hormônios bioidênticos (estriol estradiol). **Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte**. 2013.
- PIMENTEL, J. R. V.. Liberação sustentada de progesterona em micro partículas de PHB-V e PHB-V/PCL produzidas em meio super-crítico. Tese (Doutorado), 137fls – **Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal**, 2010.
- PINTO, Martina Costa Cerqueira. Influência de Variáveis Operacionais na Morfologia de Suportes Enzimáticos Preparados por Polimerização em Suspensão-Emulsão. **Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro**, 2013.
- PIRES, Ana Luiza R.; BIERHALZ, Andréa CK; MORAES, Ângela M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Quim. Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.
- PISCOPO, Marcos Roberto et al. O setor brasileiro de nanotecnologia: Oportunidades e desafios. **Revista de Negócios**, v. 19, n. 4, p. 43-63, 2015.
- PITT, Fernando Darci; BOING, Denis; BARROS, António André Chivanga. Desenvolvimento histórico, científico e tecnológico de polímeros sintéticos e de fontes renováveis. **Revista da UNIFEPE**, v. 1, n. 09, 2011.
- RANJAN, Shivendu et al. Nanoscience and nanotechnologies in food industries: opportunities and research trends. **Journal of nanoparticle research**, v. 16, n. 6, p. 1-23, 2014.
- REMYNGTON, Joseph Price. A ciência e a prática da farmácia; [Tradução Adriano Ito Azevedo...et al.] **Rio de Janeiro: Guanabara Koogan** v 2. p 442-1445. 2014.

- ROCO, Mihail C. Broader societal issues of nanotechnology. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 5, n. 3-4, p. 181-189, 2003.
- ROSA, C. H. S. S. Desenvolvimento e avaliação das propriedades de compósitos de fosfato de alumínio amorfo e polietileno-g-anidrido maleico. **Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, 2008.
- ROSSI-BERGMANN, Bartira. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 2, p. 54-57, 2008.
- SACCHETIN, Priscila Soares Costa et al. Properties of PLA/PCL particles as vehicles for oral delivery of the androgen hormone 17 $\alpha$ -methyltestosterone. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 870-881, 2016.
- SCHAFFAZICK, Scheila Rezende et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.
- SHAKED, Eliav et al. Poly (methyl methacrylate) particles for local drug delivery using shock wave lithotripsy: In vitro proof of concept experiment. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 103, n. 6, p. 1228-1237, 2015.
- SHARON, Madhuri; CHOUDHARY, Ajoy Kr; KUMAR, Rohit. Nanotechnology in agricultural diseases and food safety. **Journal of Phytology**, v. 2, n. 4, 2010.
- SILVA, A. Sofia; TAVARES, Márcia T.; AGUIAR-RICARDO, Ana. Sustainable strategies for nano-in-micro particle engineering for pulmonary delivery. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 16, n. 11, p. 1-17, 2014.
- SOUTO, Eliana B. et al. Preparação de nanopartículas poliméricas a partir da polimerização de monômeros-Parte I. **Polímeros**, v. 22, n. 1, p. 96-100, 2012.
- TABERNERO, Antonio; DEL VALLE, Eva M. Martín; GALÁN, Miguel A. Precipitation of tretinoin and acetaminophen with solution enhanced dispersion by supercritical fluids (SEDS). Role of phase equilibria to optimize particle diameter. **Powder technology**, v. 217, p. 177-188, 2012.
- TURINO, L. N. et al. In Situ-Formed Microparticles of PLGA from O/W Emulsions Stabilized with PVA: Encapsulation and Controlled Release of Progesterone. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 9, n. 2, p. 132-140, 2014.
- UCHIDA, Hirohisa et al. Production of theophylline nanoparticles using rapid expansion of supercritical solutions with a solid cosolvent (RESS-SC) technique. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 105, p. 128-135, 2015.
- VIGO, Francieli; LUBIANCA, Jaqueline Neves; CORLETA, Helena von Eye. Progestógenos: farmacologia e uso clínico. **Femina**, v. 39, n. 3, 2011.
- VILLANOVA, Janaina Cecilia Oliveira. Desenvolvimento e caracterização de copolímeros obtidos a partir de monômeros acrílicos e metacrílicos visando a aplicação como excipientes farmacêuticos para preparação de matrizes inertes por compressão direta. **Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais**. 2011.

VILLANOVA, Janaina CO; ORÉFICE, Rodrigo L.; CUNHA, Armando S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros: Ciência e tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

YOSHIDA, Valquíria Miwa Hanai. Processo antissolvente supercrítico para obtenção de dispersões sólidas. **Universidade Estado Paulista**. 2014.

ZAHRAN, Fouad et al. Dissolution rate enhancement of the anti-inflammatory drug diflunisal by coprecipitation with a biocompatible polymer using carbon dioxide as a supercritical fluid antisolvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 88, p. 56-65, 2014.