



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FLÁVIA DE MIRANDA LEÃO LEITE COSTA

**COPOLÍMEROS EM BLOCO POLI(ÓXIDO DE ETILENO -*BLOC*-
ÓXIDO DE ESTIRENO) COMO NANOCARREADORES DE
FÁRMACOS**

Fortaleza-Ceará

2007

FLÁVIA DE MIRANDA LEÃO LEITE COSTA

**COPOLÍMEROS EM BLOCO POLI(ÓXIDO DE ETILENO -*BLOC*-
ÓXIDO DE ESTIRENO) COMO NANOCARREADORES DE
FÁRMACOS**

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química Inorgânica, da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química Inorgânica.

Área de concentração: Química

Orientador(a): Profa. Dra. Nágila Maria Pontes
Silva Ricardo

Co-Orientador: Prof. Dr. Stephen G. Yeates

Fortaleza-Ceará

2007

C872c Costa, Flávia de Miranda Leão Leite
Copolímeros em bloco poli(óxido de etileno-bloc-óxido de estireno) como nanocarreadores de fármacos / Flávia de Miranda Leão Leite Costa , 2007.
152 f ; il. color. enc.

Orientadora: Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo

Co-Orientador: Prof. Dr. Stephen G. Yeates

Área de concentração: Química

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências. Depto. de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2007.

1. Copolímeros 2. Micelas 3. Solubilização 4. Fármacos I. Ricardo, Nágila Maria Pontes Silva (orient.) II. Yeates, Stephen G. (co-orient.) III. Universidade Federal do Ceará – Pós-Graduação em Química Orgânica e Inorgânica IV. Título

CDD 546

Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química Inorgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

Flávia de Miranda Leão Leite Costa

Tese aprovada em: **25/10/2007**

~~(Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo~~
~~(Orientadora -UFC)~~

Dra. Antonia Fádria Valentim de Amorim
(UECE)

~~Dr. Francisco Arnaldo Viana~~
~~(UERN)~~

~~Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa~~
~~(UFC)~~

Dra. Maria Teresa Salles Trevisan
(UFC)

Ao meu querido marido Clovandi Filho, que não poupou esforços para me ajudar nesta
empreitada.

Aos meus amados filhos, João Felipe e Ana Beatriz, que são a razão da minha vida.

Aos meus pais Hélio e Jacy, a quem nunca agradecerei suficientemente.

Aos meus sogros Clovandi e Fátima, que são para mim verdadeiros pais.

Aos meus irmãos Hélio Filho, Paulo e Marcos e aos meus cunhados Fernando,
Nazareth, Christiane e Deborah, que foram pais e mães para os meus filhos.

AGRADECIMENTOS

À prof^a. Dr^a. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo, por todos os conhecimentos transmitidos, oportunidades oferecidas, apoio e incentivo em todos os momentos, agradabilíssimo convívio e por ter me aberto as portas de um novo mundo.

Ao prof. Dr. professor Stephen G. Yeates, pela calorosa recepção e solicitude durante minha estadia na Universidade de Manchester, Reino Unido.

Ao prof. Dr. Colin Booth, pelas orientações sobre a técnica de Espalhamento de Luz e discussões sobre solubilização de fármacos e pelo humor deliciosamente britânico.

Ao prof. Dr. Frank Heatley, pela obtenção e discussão dos espectros de RMN de ^{13}C , amizade e incríveis sugestões de passeios pela “velha Iglaterra”.

À prof^a. Dr^a. Chiraphon Chaibundit, pelas orientações nos experimentos de Espalhamento de Luz, amizade e humor maravilhoso.

À Dra. Carin Tattershall, pela ajuda inestimável na síntese dos copolímeros em bloco e paciência ao me ensinar a operação da linha de alto vácuo.

À Dra. Silvia Barbosa Fernandes, cara companheira de sínteses.

Ao PADETEC, na pessoa do prof. Dr. Afrânio Aragão Craveiro, pela cessão da infraestrutura laboratorial em diferentes etapas da realização deste trabalho.

À Elenir, caríssima companheira de solubilização, reologia, alegrias e sacrifícios.

Ao Igor e ao João Vítor, meus fiéis escudeiros.

Ao Adonay, pela amizade, companheirismo e apoio em terras estrangeiras.

À Rafaella, Leônia, Célio, Drauli, Anida, Johnny, Samira, Rafael e Janaína, pela amizade e apoio constantes.

Aos companheiros do PADETEC, Suely, Kamilla, Ricardo, Tecia, Candice e Paloma, pelo incentivo, amizade e divertido convívio.

À Nadja e ao Bobby, pela amizade, maravilhosas viagens e boas risadas.

Ao Ricardinho, Cecinho e Johnny, pelo apoio e amizade.

À dona Benta, por ter cuidado do João e da Beatriz com carinho de mãe.

À FUNCAP, pela bolsa de doutorado.

À CAPES, pela bolsa do Programa de Doutorado no Brasil com Estágio no Exterior-PDEE.

RESUMO

Seis copolímeros triblocos $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$, $E_{102}S_9E_{102}$, $E_{71}S_{19}E_{71}$ e $S_{91}E_7S_{91}$ e um copolímero dibloco $E_{43}S_6$ (onde E denota uma unidade de óxido de etileno e S denota uma unidade de óxido de estireno) foram sintetizados por copolimerização aniônica seqüencial através da técnica de ampolas e alto vácuo. Os copolímeros foram caracterizados por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C) e Cromatografia de Permeação em Gel (GPC). RMN ^{13}C foi utilizada para determinar os comprimentos médios dos blocos. Análises de GPC mostraram que tanto os blocos individuais como os copolímeros apresentaram estreitas distribuições de massas molares ($M_w/M_n < 1.2$).

As propriedades micelares em solução aquosa foram determinadas por Espalhamento de Luz Estático e Dinâmico em duas temperaturas (25 e 40°C). As massas molares mássicas médias das micelas, obtidas por medidas de Espalhamento de Luz Estático foram 0,44 e $0,87 \times 10^5$ g/mol para os copolímeros triblocos $E_{61}S_7E_{61}$ e $E_{102}S_9E_{102}$, respectivamente, e $1,9 \times 10^5$ g/mol para o copolímero dibloco $E_{43}S_6$. Os valores de número de associação médios (N_w) foram 6 e 10 para os copolímeros triblocos $E_{61}S_7E_{61}$ e $E_{102}S_9E_{102}$, respectivamente, e 72 para o copolímero dibloco $E_{43}S_6$. Os raios hidrodinâmicos das micelas (r_h), determinados por Espalhamento de Luz Dinâmico, variaram de 5,5-7,4 nm para os copolímeros triblocos.

O comportamento reológico do copolímero tribloco $E_{71}S_{19}E_{71}$ em solução aquosa foi estudado pelo método de inversão de tubo. As soluções desse copolímero formaram géis a partir da concentração de 17% (m/m) e os géis formados foram estáveis em temperaturas elevadas (90°C). Misturas dos copolímeros $E_{71}S_{19}E_{71}$ e $E_{98}P_{67}E_{98}$ (F127) foram preparadas na proporção de 70/30% (m/m) e investigadas pelo método de inversão de tubo e reometria. As soluções de F127 e das misturas de copolímeros mostraram limites de formação de gel semelhantes e, portanto, podem ser usadas para formação de géis *in situ* em sistemas de liberação controlada.

Espectroscopia UV-Vis foi usada para medir a capacidade de solubilização de soluções micelares dos seguintes copolímeros $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$ e $E_{102}S_9E_{102}$. A solubilização de três fármacos hidrofóbicos griseofulvina, rutina e quercetina pelas micelas dos copolímeros com diferentes comprimentos de bloco hidrofóbico foi investigada. Os resultados mostraram que quanto mais longo o bloco hidrofóbico, maior a capacidade de solubilização das micelas. O aumento de temperatura na faixa de 25-37

°C resultou em aumento da capacidade de solubilização das micelas. Os copolímeros $E_{70}S_9E_{70}$ e $E_{102}S_9E_{102}$ apresentaram-se como os solubilizantes mais eficientes para os fármacos Rutina e Quercetina e o copolímero $E_{102}S_9E_{102}$ foi o mais eficiente frente ao fármaco Griseofulvina.

ABSTRACT

Six triblock copolymers $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$, $E_{102}S_9E_{102}$, $E_{71}S_{19}E_{71}$ and $S_{91}E_7S_{91}$ and one diblock copolymer $E_{43}S_6$ (where E denotes an ethylene oxide unit and S denotes a styrene oxide unit) were synthesised by sequential anionic copolymerisation using ampoule and high vacuum techniques. The copolymers were characterized by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^{13}C NMR) and Gel Permeation Chromatography (GPC). ^{13}C NMR was used to determine the number averaged block lengths. Analysis by GPC showed that the individual blocks and the overall copolymer had narrow molar mass distributions ($M_w/M_n < 1.2$).

Dynamic and Static Light Scattering were used to determine micellar properties in dilute aqueous solution at two temperatures (25 e 40°C). The weight averaged molar masses of the micelles from Static light Scattering measurements were 0,44 and 0,87 $\times 10^5$ g/mol for the triblock copolymers $E_{61}S_7E_{61}$ and $E_{102}S_9E_{102}$, respectively, and 1,9 $\times 10^5$ g/mol for the diblock copolymer $E_{43}S_6$. The values of the mass-average association number (N_w) were 6 and 10 for triblock copolymers $E_{61}S_7E_{61}$ and $E_{102}S_9E_{102}$, respectively, and 72 for the diblock copolymer $E_{43}S_6$. The hydrodynamic radii of the micelles (r_h), determined from Dynamic Light Scattering, ranged from 5,5-7,4 nm for the triblock copolymers and 12-15 nm for the diblock copolymers.

The phase behaviour of the copolymer $E_{71}S_{19}E_{71}$ in aqueous solution was defined by using tube inversion. Solutions of copolymer $E_{71}S_{19}E_{71}$ formed gels in the concentration of 17% (w/w) and the gels were stable in elevated temperatures (90°C). Mixtures of the copolymers $E_{71}S_{19}E_{71}$ and $E_{98}P_{67}E_{98}$ (F127) were prepared in the proportion of 70/30% (w/w) and investigated by using tube inversion and rheometry. The mixtures and F127 solutions showed similar gel boundaries limits and hence can be used for the formation of in-situ gelling controlled release systems.

A UV spectroscopy method was used to measure the solubilisation capacity of micellar solutions of the following copolymers $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$ and $E_{102}S_9E_{102}$. The solubilisation of three hydrophobic drugs Griseofulvin, Rutin, and Quercetin by the micelles of the block copolymers with varying length was investigated. The results showed that the longer the hydrophobe block length the greater the solubilisation capacity of the micelles. Increase of temperature over the range 25-37°C increased the solubilisation capacity of the micelles. Copolymer $E_{70}S_9E_{70}$ was the most

efficient solubiliser for Rutin and Quecetin and copolymer E₁₀₂S₉E₁₀₂ was the most efficient solubiliser for Griseofulvin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática das categorias de copolímeros.....	3
Figura 2. Estruturas dos monômeros óxido de etileno, óxido de estireno, óxido de propileno e óxido de butileno.....	7
Figura 3. Formação de grupos alcóxidos primários e secundários durante as etapas de iniciação e propagação.....	8
Figura 4. Mecanismo de polimerização do óxido de estireno, usando iniciador bifuncional.....	9
Figura 5. Mecanismo de polimerização do óxido de estireno, usando iniciador monofuncional.....	10
Figura 6. Mecanismo de adição do segundo monômero (óxido de etileno) ao precursor para obtenção de copolímero dibloco.	11
Figura 7. Ilustração da formação de uma micela.....	15
Figura 8. Representação esquemática das possíveis conformações micelares de copolímeros diblocos e triblocos.....	19
Figura 9. Estrutura química do fármaco Griseofulvina.....	34
Figura 10. Representação esquemática da linha de vácuo utilizada na síntese dos copolímeros.....	45
Figura 11. Espectro representativo de RMN ¹³ C para o homopolímero poli(óxido de estireno).....	49
Figura 12. Espectro representativo de RMN ¹³ C para o copolímero ESE.....	50
Figura 13. Curva de GPC representativa para o copolímero E _m S _n E _m	58
Figura 14. Diagrama mostrando a luz verticalmente polarizada, onde $\gamma = 90^\circ$ e $\text{sen } \gamma = 1$	62
Figura 15. Ilustração de um gráfico de Zimm.....	66
Figura 16. (a) Intensidade versus frequência para sistemas estáticos e dinâmicos e (b) Intensidade versus tempo para sistemas estáticos e dinâmicos respectivamente.	69
Figura 17. Função intensidade de correlação.....	72
Figura 18. Curvas de Debye para o copolímero E ₇₁ S ₅ E ₇₁ em (a) 25 °C e (b) 40°C.....	80

Figura 19. Curvas de Debye para o copolímero E ₁₀₂ S ₉ E ₁₀₂ em (a) 25 °C e (b) 40°C.....	80
Figura 20. Curvas de Debye para o copolímero E ₄₃ S ₆ em (a) 25 °C e (b) 40°C.....	81
Figura 21. Recíproco do raio hidrodinâmico versus concentração das soluções aquosas micelares dos copolímeros (a) E ₇₁ S ₅ E ₇₁ , (b) E ₆₁ S ₇ E ₆₁ , (c) E ₇₀ S ₉ E ₇₀ e (d) E ₁₀₂ S ₉ E ₁₀₂ em 25 °C.....	83
Figura 22. Deformação de um fluido Newtoniano.....	88
Figura 23. Representação esquemática da variação da tensão de cisalhamento com a taxa de cisalhamento indicando diferentes tipos de comportamento reológico: (1) Newtoniano; (2) Pseudoplástico; (3) Dilatante; (4) Plástico Ideal de Bingham; (5) Plástico de Bingham não-ideal (σ_0 é o valor crítico de Bingham).....	91
Figura 24. Diagrama de gel das soluções aquosas do E ₉₈ S ₆₇ E ₉₈ (F127), E ₆₂ P ₃₉ E ₆₂ : (□) inversão de tubo, (■) reologia.....	97
Figura 25. Diagrama de gel das soluções aquosas: S19 (curva tracejada) e mistura S19/F127 70/30 % (m/m) (●).....	97
Figura 26. Dependência da temperatura do logaritmo dos módulos G' e G'' das soluções aquosas da mistura S19/F127 70/30 (m/m) nas concentrações: (a) 18, (b) 21 e (c) 25 (%m/m).....	100
Figura 27. Curva de calibração para: (●) griseofulvina, (○) rutina e (x) quercetina em metanol.....	105
Figura 28. Solubilidade da griseofulvina em função da concentração do polietilenoglicol 6000 em 25 e 37 °C.....	105
Figura 29. Capacidade de solubilização (s_{cp}) dos fármacos griseofulvina, rutina e quercetina em soluções aquosas dos copolímeros E ₇₁ S ₅ E ₇₁ , E ₆₁ S ₇ E ₆₁ , E ₇₀ S ₉ E ₇₀ e E ₁₀₂ S ₉ E ₁₀₂ em 25 °C.....	110
Figura 30. Capacidade de solubilização (s_{cp}) dos fármacos griseofulvina, rutina e quercetina em soluções aquosas dos copolímeros E ₆₁ S ₇ E ₆₁ em 25 °C e 37 °C.....	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudos mais importantes sobre a solubilização, estabilização e liberação de fármacos com copolímeros Poloxamer.....	27
Tabela 2. Classe, estrutura e nome de alguns flavonóides.....	36
Tabela 3. Condições preparativas para a síntese dos copolímeros E_mS_n e $S_nE_mE_mS_n$	46
Tabela 4. Condições preparativas para a síntese dos copolímeros E_mS_n e $S_nE_mE_mS_n$	47
Tabela 5. Atribuições dos picos de RMN ^{13}C e deslocamentos químicos para o homopolímero poli(óxido de estireno).....	51
Tabela 6. Atribuições dos picos de RMN ^{13}C e deslocamentos químicos para os copolímeros $E_mS_nE_m$	51
Tabela 7. Somatório das integrais dos carbonos da cadeia poli(óxido de estireno) e dos carbonos das unidades terminais a partir de RMN ^{13}C	52
Tabela 8. Números médios dos comprimentos dos blocos de óxido de estireno dos copolímeros $E_mS_nE_m$ a partir de RMN ^{13}C	52
Tabela 9. Somatório das integrais dos carbonos dos blocos de óxido de estireno e dos carbonos dos blocos de óxido de etileno dos copolímeros $E_mS_nE_m$ a partir de RMN ^{13}C	53
Tabela 10. Números médios dos comprimentos dos blocos de óxido de etileno dos copolímeros $E_mS_nE_m$ a partir de RMN ^{13}C	54
Tabela 11. Somatório das integrais dos carbonos blocos de óxido de estireno e dos carbonos dos blocos de óxido de etileno dos copolímeros $S_nE_mE_mS_n$ e E_mS_n a partir de RMN ^{13}C	55
Tabela 12. Números médios dos comprimentos dos blocos de óxido de etileno e óxido de estireno dos copolímeros $S_nE_mE_mS_n$ e E_mS_n a partir de RMN ^{13}C	55
Tabela 13. Caracterização dos copolímeros em bloco $E_mS_nE_m$, E_mS_n e $S_nE_mE_mS_n$	58

Tabela 14. Características micelares de copolímeros triblocos (ESE) e diblocos (ES) em solução aquosa.....	82
Tabela 15. Valores de raios hidrodinâmicos (r_h) de copolímeros triblocos (ESE) e diblocos (ES) em solução aquosa.....	84
Tabela 16. Solubilização da griseofulvina em solução aquosa de $E_{71}S_5E_{71}$ a 1% m/v, 25 °C.....	106
Tabela 17. Solubilização da griseofulvina em solução aquosa de $E_{61}S_7E_6$ a 1% m/v, 25 °C.....	106
Tabela 18. Solubilização da griseofulvina em solução aquosa de $E_{70}S_9E_{70}$ a 1% m/v, 25 °C.....	107
Tabela 19. Solubilização da griseofulvina em solução aquosa de $E_{102}S_9E_{102}$ a 1% m/v, 25 °C.....	107
Tabela 20. Capacidade de solubilização, s_{cp} ($mg \cdot g^{-1}$) e s_h ($mg \cdot g^{-1}$) dos copolímeros	108
Tabela 21. Solubilização dos fármacos: griseofulvina, rutina e quercetina ($mg/100$ mL) em água a 25 e 37 °C.....	109
Tabela 22. Capacidade de solubilização, s_{cp} ($mg \cdot g^{-1}_{copol}$), capacidade de solubilização por bloco hidrofóbico s_h ($mg \cdot g^{-1}$) de diferentes copolímeros para o fármaco griseofulvina em 25 °C.....	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EO	Óxido de etileno
PO	Óxido de propileno
BO	Óxido de butileno
SO	Óxido de estireno
Anf B	Anfotericina B
Cis	Cisplatina
Cs A	Ciclosporina A
DHT	Dihidroxitestosterona
Dox	Doxorubicina
E	Unidade repetitiva de óxido de etileno. Pode se referir ao polióxido de etileno, quando o número de unidades da cadeia não está especificado.
Ind	Indometacina
P	Unidade repetitiva de óxido de propileno. Pode se referir ao polióxido de propileno, quando o número de unidades da cadeia não está especificado.
B	Unidade repetitiva de óxido de butileno. Pode se referir ao polióxido de butileno, quando o número de unidades da cadeia não está especificado.
S	Unidade repetitiva de óxido de estireno. Pode se referir ao polióxido de estireno, quando o número de unidades da cadeia não está especificado.
PEO	Polietileno glicol
PVP	Polivinilpirrolidona
PTX	Paclitaxel
E_mP_n (EP)	Dibloco de polióxido de etileno e polióxido de propileno. Os subscritos m e n representam o número de unidades de repetição de E e P, respectivamente.
E_mB_n (EB)	Dibloco de polióxido de etileno e polióxido de butileno. Os subscritos m e n representam o número de unidades de repetição de E e B, respectivamente.

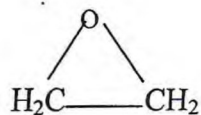
E_mS_n (ES)	Dibloco de polióxido de etileno e polióxido de estireno. Os subscritos m e n representam o número de unidades de repetição de E e S, respectivamente.
$E_mP_nE_m$ (EPE)	Tribloco de polióxido de etileno e polióxido de propileno. Os subscritos m e n representam o número de unidades de repetição de E e P, respectivamente.
$E_mB_nE_m$ (EBE)	Tribloco de polióxido de etileno e polióxido de butileno. Os subscritos m e n representam o número de unidades de repetição de E e B, respectivamente.
$E_mS_nE_m$ (ESE)	Tribloco de polióxido de etileno e polióxido de estireno. Os subscritos m e n representam o número de unidades de repetição de E e S, respectivamente.
$S_nE_mS_n$ (SES)	Tribloco de polióxido de etileno e polióxido de propileno. Os subscritos m e n representam o número de unidades de repetição de E e P, respectivamente.
UV-Vis	Espectroscopia de Ultravioleta-Visível
cmc	Concentração micelar crítica
cmt	Temperatura micelar crítica
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SEC	Cromatografia por Exclusão de Tamanho
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
SLS	Espalhamento de Luz Estático
DLS	Espalhamento de Luz Dinâmico
M_w	Massa molar peso médio
M_n	Massa molar numérica média
M_w/M_n	Razão massa molar peso médio/ massa molar número médio
r_h	Raio hidrodinâmico
S_{cp}	Capacidade de solubilização
S_h	Capacidade de solubilização por bloco hidrofóbico
G	Griseofulvina
R	Rutina

Q

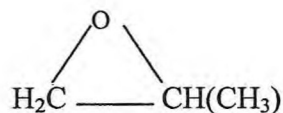
Quercetina

LISTA DE NOMES E ESTRUTURAS

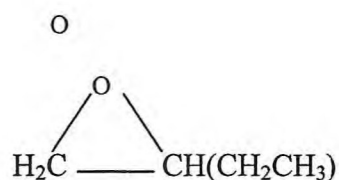
EO Óxido de etileno



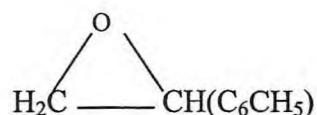
PO Óxido de propileno



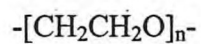
BO Óxido de butileno



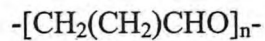
SO Óxido de estireno



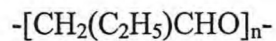
E Polióxido de etileno



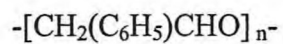
P Polióxido de propileno



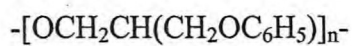
B Polióxido de butileno



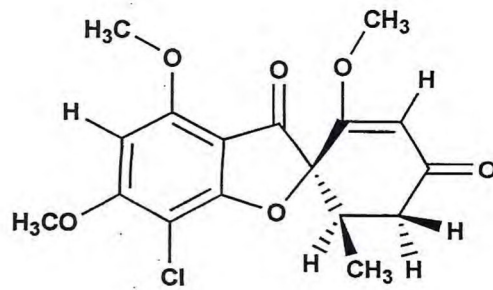
S Polióxido de estireno



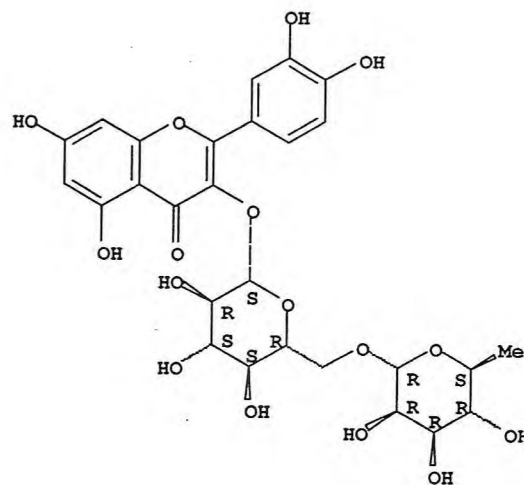
Gl Fenil glicidil éter



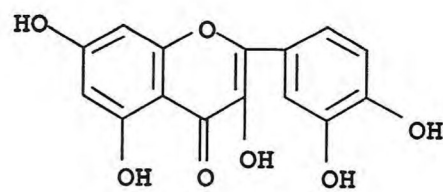
G Griseofulvina



R Rutina



Q Quercetina



SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	
1.1. COPOLÍMEROS.....	2
1.1.1. COPOLÍMEROS EM BLOCO	3
1.1.2. POLIMERIZAÇÃO ANIÔNICA.....	4
1.1.2.1. 1,2-EPÓXIDOS.....	6
1.1.2.2. MECANISMO DE POLIMERIZAÇÃO DOS 1,2-EPÓXIDOS.....	7
1.1.3. COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO ÓXIDO DE ETILENO/ÓXIDO DE PROPILENO.....	12
1.1.4. COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO ÓXIDO DE ETILENO/ÓXIDO DE ESTIRENO.....	13
1.1.5. INTRODUÇÃO À MICELIZAÇÃO.....	13
1.1.5.1. TERMODINÂMICA DA MICELIZAÇÃO.....	15
1.1.5.2. FATORES QUE AFETAM A MICELIZAÇÃO.....	17
1.1.5.2.1. BLOCO HIDROFÓBICO E HIDROFÍLICO.....	18
1.1.5.2.2. ARQUITETURA DO BLOCO.....	18
1.1.6. FORMAS DAS MICELAS.....	19
1.2. SOLUBILIZAÇÃO DE FÁRMACOS.....	20
1.3. FÁRMACOS.....	33
1.4. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	40
	28
2. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO POLI (ÓXIDO DE ETILENO -<i>BLOC</i>- ÓXIDO DE ESTIRENO)	
2.1 SÍNTESE DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO POLI(ÓXIDO DE ETILENO - <i>BLOC</i> - ÓXIDO DE ESTIRENO)	
2.1.1. REAGENTES E MATERIAIS.....	43
2.1.2. SÍNTESE DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO $E_mS_nE_m$	44

2.1.3. SÍNTESE DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO E_mS_n e $S_nE_mS_n$	46
2.1.4. PURIFICAÇÃO.....	47
2.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO POLI (ÓXIDO DE ETILENO -<i>BLOC</i>- ÓXIDO DE ESTIRENO)	
2.2.1. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C (RMN DE ^{13}C).....	47
2.2.1.1. EXPERIMENTAL.....	47
2.2.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
2.2.2. CARACTERIZAÇÃO POR CROMATOGRAFIA POR PERMEAÇÃO EM GEL (GPC).....	55
2.2.2.1. EXPERIMENTAL.....	57
2.2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
3. ESPALHAMENTO DE LUZ	
3.1. ESPALHAMENTO DE LUZ.....	60
3.1.1. ESPALHAMENTO DE LUZ ESTÁTICO (SLS).....	61
3.1.2. ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (DLS).....	68
3.2. EXPERIMENTAL.....	78
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	
3.3.1. ESPALHAMENTO DE LUZ ESTÁTICO (SLS).....	79
3.3.2. ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (DLS).....	82
4. REOLOGIA	
4.1. REOLOGIA.....	86
4.1.1. FLUIDOS NEWTONIANOS.....	88
4.1.2. FLUIDOS NÃO-NEWTONIANOS.....	89
4.1.3. VISCOELASTICIDADE LINEAR.....	92
4.2. EXPERIMENTAL	

4.2.1 MISTURAS BINÁRIAS DOS COPOLÍMEROS.....	94
4.2.2. DIAGRAMA DE FASE	95
4.2.3. ESTUDO REOLÓGICO.....	96
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.3.1. DIAGRAMA DE FASE.....	96
4.3.2. ESTUDO REOLÓGICO.....	99
5. ESTUDOS DE SOLUBILIZAÇÃO	
5.1. REAGENTES E MATERIAIS.....	103
5.2. EXPERIMENTAL.....	103
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	104
6. CONCLUSÕES	114
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	117

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. COPOLÍMEROS

Um polímero é uma macromolécula de cadeia longa composta de unidades estruturais menores chamadas meros. Um copolímero é um polímero formado por mais de uma espécie de monômero, isto é, a cadeia polimérica possui duas unidades repetitivas diferentes. Existem várias categorias de copolímeros, cada uma caracterizada por um tipo particular de arranjo das unidades repetitivas ao longo da cadeia. A seqüência de unidades repetitivas ao longo da cadeia do copolímero influencia as suas propriedades e diferentes seqüências produzirão copolímeros estruturalmente únicos (Goodman, 2005). A representação destas categorias é ilustrada por copolímeros que contém só dois tipos diferentes de unidade repetitiva, A e B (Fig. 1):

(i) Copolímeros estatísticos

Copolímeros nos quais a distribuição seqüencial das unidades repetitivas obedece a leis estatísticas conhecidas. Se a distribuição de unidades repetitivas é completamente aleatória, o copolímero é chamado randômico.

(ii) Copolímeros alternados

Copolímeros nos quais dois tipos diferentes de unidades repetitivas se alternam ao longo da cadeia polimérica.

(iii) Copolímeros em bloco

Copolímeros lineares nos quais as unidades repetitivas apresentam-se em longas seqüências ou blocos do mesmo tipo. Os dois tipos mais comuns de copolímeros em bloco são os diblocos do tipo AB e os triblocos do tipo ABA.

(iv) Copolímeros enxertados

Copolímeros ramificados em que as cadeias laterais possuem estrutura química diferente da cadeia principal. Em outras palavras, são copolímeros em que a cadeia principal é constituída de um tipo de homopolímero e as ramificações de um homopolímero diferente.

Copolímero estatístico

AAAABBABBAAABBBAAB

Copolímero alternado

ABABABABABABABABAB

Copolímeros em bloco

AAABBBAAABBBAAABBB

Copolímero enxertado

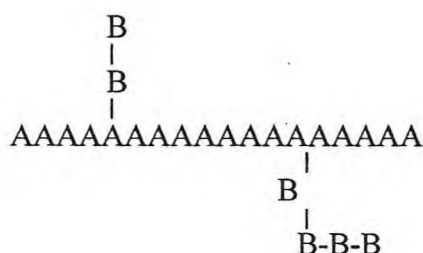


Figura 1. Representação esquemática das categorias de copolímeros.

1.1.1. COPOLÍMEROS EM BLOCO

Copolímeros em bloco solúveis em água têm atraído grande interesse na pesquisa básica e na indústria nos últimos anos, sendo os copolímeros em bloco os mais estudados. O potencial destes materiais sintetizados com elevado grau de pureza foi reconhecido quando os copolímeros do tipo óxido de etileno-óxido de propileno, os mais investigados até então, passaram a ser comercializados por Wyandotte Chemical Corporation em 1951 (Lundsted, 1951). Schmolka (Schmolka, 1967) e Lundsted (Lundsted & Schmolka, 1976) foram os primeiros a publicar trabalhos de revisão nesta área nos anos 60 e 70 e outras revisões foram publicadas posteriormente por Nace (1996) e Hamley (1998). O comportamento destes copolímeros em soluções aquosas foi atribuído aos seguintes parâmetros estruturais, os quais estão relacionados às propriedades físicas de cada bloco individual do copolímero:

- (i) Composição do copolímero, massa molar média e distribuição de massa molar do precursor e dos copolímeros;
- (ii) Natureza química dos respectivos blocos;
- (iii) O comprimento e número dos blocos;
- (iv) Arquitetura do bloco.

1.1.2. POLIMERIZAÇÃO ANIÔNICA

A polimerização aniônica é uma ferramenta poderosa para a síntese de uma grande variedade de materiais com características moleculares bem definidas e homogeneidade de composição (Hadjichristidis e col., 2000). Esta vantagem faz da polimerização aniônica uma técnica muito interessante para a síntese de polímeros modelo e para estudos das relações entre estrutura e propriedades físicas e químicas. A polimerização aniônica é um método de polimerização caracterizada pela ausência, na maioria dos casos, de qualquer reação de terminação espontânea. A ausência da etapa de terminação possibilita a obtenção de cadeias com comprimentos previsíveis e estreitas distribuições de comprimento de cadeia. Comprimentos de cadeia longos também são possíveis se reações de transferência estão ausentes e não há nenhuma terminação causada por impurezas presentes no meio reacional. Neste caso, o comprimento da cadeia é governado somente pela relação de mols de monômero/iniciador usada. Sob estas condições, as cadeias de polímero em propagação retêm os seus grupos terminais ativos. Se mais monômero é adicionado depois de completa a conversão da quantidade inicial, a cadeia continuará a sofrer polimerização, permanecendo ativa. Este tipo de polímero, que permanece ativo e continua crescendo enquanto o monômero está disponível, é chamado "living polymer" (Szwarc, 1956).

Além da ausência da etapa de terminação e de impurezas que possam a ela conduzir, é necessário ter uma taxa de iniciação mais alta que a taxa de propagação. Porém, a alta reatividade dos centros aniônicos frente à umidade, oxigênio, gás carbônico e outros contaminantes tornou necessário o desenvolvimento de aparatos e técnicas apropriadas para evitar a prematura etapa de terminação da reação de polimerização. Técnicas de alto vácuo e atmosfera inerte têm sido empregadas com sucesso para a polimerização aniônica. As técnicas de atmosfera inertes são mais simples e conduzem mais facilmente à preparação de quantidades grandes de material. Em contraste, as técnicas de alto vácuo exigem vidrarias e aparatos mais sofisticados, mais tempo de reação e normalmente conduzem à síntese de pequenas quantidades de material. Não obstante, estas limitações são amplamente compensadas pela possibilidade de modelar a arquitetura molecular e, conseqüentemente, obter complexos compostos modelo (Hadjichristidis e col., 2000).

Em 1960, Worsfold e Bywater (1960) descreveram um aparato para realizar a polimerização aniônica sob condições de alto vácuo. Em 1975, Morton e Fetters (1975) em uma revisão detalhada, apresentaram aparatos e reatores usados para técnicas de alto

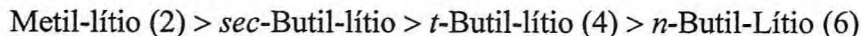
vácuo. No entanto, a metodologia de alto vácuo apresentada nestes dois artigos é aplicada principalmente à síntese de estruturas simples, como por exemplo, polímeros de estrela lineares e simétricos. Desde 1977, a técnica de alto vácuo vem sendo desenvolvida e modificada para a síntese de materiais poliméricos com complexas estruturas macromoleculares.

Os monômeros susceptíveis à polimerização aniônica são aqueles que podem formar carbânions estáveis sob as condições de reação. Os monômeros estirênicos, diênicos e cíclicos que podem reagir com nucleófilos, conduzindo à abertura do anel, são os mais estudados (Mays e Hadjichristidis, 1989; Conlon e col., 1989). A dupla ligação deve ter substituintes que possam estabilizar a carga negativa por deslocalização, tornando os ânions estáveis para possíveis ataques nucleofílicos de outras espécies. Conseqüentemente, grupos fortemente eletrofílicos ou doadores de prótons, como os grupos funcionais amino, carboxil, hidroxil, ou acetileno, interferirão durante a polimerização aniônica e, portanto, devem ser excluídos da unidade monomérica ou protegidos por derivatização. Em contraste, anéis aromáticos, duplas ligações, grupos carbonila, éster, ciano, sulfona, e assim sucessivamente, estabilizam a carga negativa e promovem a reação. A existência de substituintes polares, como grupos carbonila, ciano ou nitro conduzem a uma situação complexa, porque eles podem reagir com o iniciador ou com as espécies aniônicas em fase de propagação.

Os iniciadores aniônicos mais úteis e versáteis para a polimerização aniônica são os compostos de alquil-lítio, uma vez que a maioria deles são comercialmente disponíveis, podem ser facilmente preparados pela reação do cloreto de alquila correspondente com o lítio metálico e são solúveis em uma grande variedade de solventes, incluindo hidrocarbonetos.

A característica única dos compostos de alquil-lítio, entre outros compostos orgânicos com metais alcalinos, é que a ligação C-Li exibe propriedades tanto de ligação covalente quanto de ligação iônica (Schade, C, von Rague Schleyer, 1988; Lambert e von Rague Schleyer, 1994). Isto é uma consequência do fato de o lítio apresentar, em comparação com outros metais alcalinos, o menor raio, a maior eletronegatividade e o maior potencial de ionização (Rundle, 1957). Além disso, p orbitais não preenchidos de baixa energia estão disponíveis para a ligação. O caráter covalente da ligação C-Li, juntamente com a forte agregação dos pares iônicos é responsável pela maior solubilidade dos compostos de alquil-lítio em solventes hidrocarbonetos, em comparação com a solubilidade de ânions com outros metais

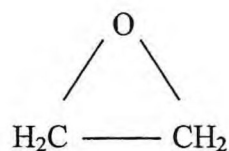
alcalinos como contra-íons (Brown, 1965; Brown, 1970; Dietrich, 1981). No entanto, verificou-se que, no estado sólido e em solução, estes compostos formam agregados. A estrutura da parte orgânica influencia fortemente o grau de agregação. Cadeias alifáticas levam à formação de agregados hexaméricos em solventes hidrocarbonetos, enquanto que a presença de ramificação no carbono α ou β leva à formação de agregados tetraméricos. O grau de associação é também influenciado pela natureza do solvente, concentração da solução e da temperatura. Em geral, o grau de associação decresce pela diminuição de concentração, utilização de um solvente com alto poder de solvatação, através do aumento da temperatura e usando um grupo orgânico capaz de deslocalizar elétrons (Brown, Dickerhoff e Baffus 1962; Lewis e Brown, 1970; Fraenkel, Beckenbaugh e Yang, 1976). Demonstrou-se que a reatividade dos iniciadores de alquil-lítio está diretamente ligada ao seu grau de associação: quanto menor o grau de associação a maior a reatividade do iniciador. Hsieh, 1965; Selman, e Hsieh, 1971). Assim, a ordem de reatividade de vários iniciadores alquil-lítio para polimerizações de estireno e dienos é dada a seguir, onde o grau de associação é dado entre parênteses (Hsieh e Glaze, 1970):



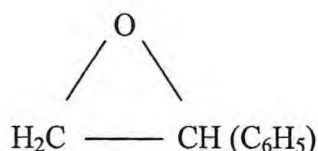
Iniciadores de alquil-lítio são usados preferencialmente para a polimerização de estireno e dienos, mas são muito reativos para a polimerização de metacrilato, pois atacam o grupo carbonila. Por esta razão menos reativa iniciadores menos reativos (Yukie Hatada, 1979; Varshney e col., 1991; Ozaki, Hirao e Nakahama, 1992) têm sido utilizados com sucesso, por exemplo, difenilhexillítio, preparado pela reação de n-Butil-lítio com 1,1-difeniletileno.

1.1.2.1. 1,2-EPÓXIDOS

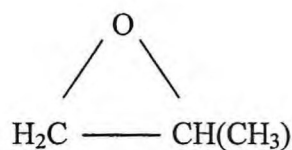
Epóxidos são compostos heterocíclicos contendo dois átomos de carbono e um átomo de oxigênio no anel e o ataque nucleofílico seletivo em um dos átomos de carbono fornece uma série de monômeros disponíveis para a síntese de copolímeros em bloco. Óxido de etileno (EO), óxido de estireno (SO), óxido de propileno (PO), e óxido de butileno (BO) são exemplos de monômeros do tipo 1,2-epóxidos (Figura 2). O anel é facilmente aberto pela reação com uma base, por exemplo, para formar um polímero. Os polímeros assim obtidos contêm ligações éter do tipo (C-O-C) na cadeia principal e são chamados de poliéteres.



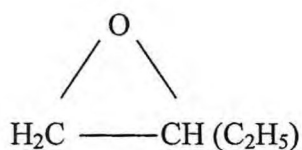
Óxido de etileno



Óxido de estireno



Óxido de propileno



Óxido de butileno

Figura 2. Estruturas dos monômeros óxido de etileno, óxido de estireno, óxido de propileno e óxido de butileno.

1.1.2.2. MECANISMO DE POLIMERIZAÇÃO DOS 1,2-EPÓXIDOS

Muitos sistemas catalíticos diferentes têm sido usados para a polimerização de copolímeros em bloco do tipo poliéteres a partir de monômeros 1,2-Epóxidos (Lundsted e Schmolka, 1976). Wurtz (1863) publicou o primeiro trabalho sobre a polimerização de epóxidos catalisada por base em 1863 e aplicações industriais começaram a surgir na década de 1950 (Lundsted, 1954)

O monômero é convertido primeiramente ao seu polímero, utilizando-se um iniciador mono ou bifuncional sob condições controladas de reação, produzindo um polímero precursor que possui grupos reativos em uma ou em ambas as extremidades. As extremidades reativas agirão então como um iniciador para a polimerização de um segundo monômero, produzindo assim um copolímero di ou tribloco. Além disso, a ausência de reações laterais de terminação permite o que é chamado de uma síntese "limpa", com estruturas predeterminadas e distribuições estreitas de massas molares.

O ataque nucleofílico de uma molécula de iniciador em um carbono do anel gera um ânion alcóxido, que por sua vez, também atua como um excelente nucleófilo, reagindo com outra molécula de epóxido para propagar o crescimento de cadeia polimérica. Esta é uma reação de substituição nucleofílica de segunda ordem (S_N2)

(Santacesaria e col., 1990). Epóxidos substituídos, como óxido de estireno, são atacados predominantemente no carbono menos substituído devido a efeitos estéricos. Este processo favorece a formação de grupos alcóxidos secundários em detrimento de grupos alcóxidos primários (Figura 3) para monômeros assimétricos polimerizados sob condições básicas (March, 1977).

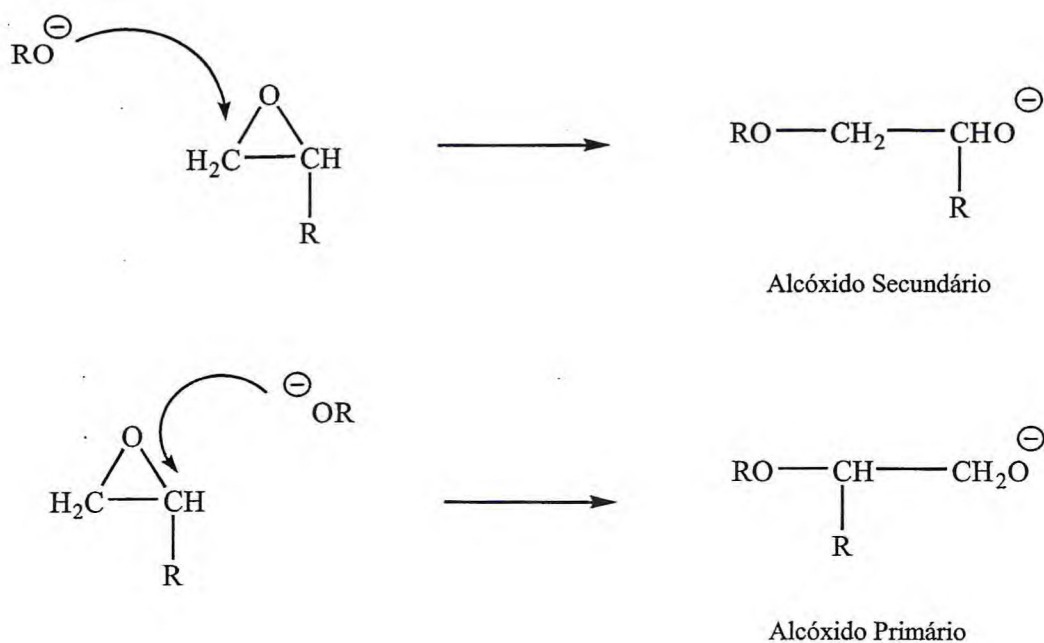
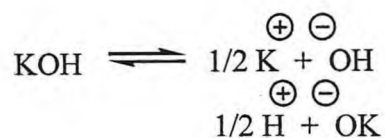


Figura 3. Formação de grupos alcóxidos primários e secundários durante as etapas de iniciação e propagação.

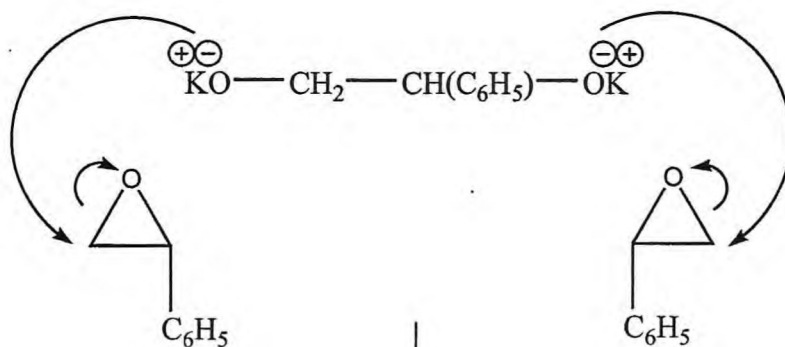
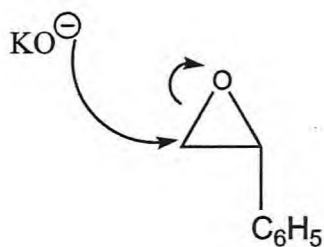
O uso de nucleófilos na ausência de catalisadores torna difícil a propagação da cadeia, com baixas taxas de reação, resultando em cadeias de pequenas extensões. Para produzir cadeias mais longas e, portanto, aumentar a massa molar do polímero, a presença dos íons alcóxidos deve ser mantida ao longo do curso da reação com o uso de bases fortes. A título de ilustração, as Figuras 4 e 5 mostram os esquemas de reação para as etapas de iniciação e propagação da polimerização do óxido de estireno com iniciadores bi e monofuncionais.

Quando a polimerização do precursor estiver completa, o polímero está pronto para a adição de um segundo monômero para completar a síntese do copolímero em bloco. Para se obter blocos com estreitas distribuições de massas molares, o segundo monômero só é adicionado quando o primeiro tiver sido completamente convertido a polímero. A natureza "viva" das cadeias do polímero precursor significa que nenhuma

iniciação é requerida ao adicionar o segundo monômero. O mecanismo de reação para a adição de um segundo monômero, óxido de etileno, a um precursor de óxido de estireno é mostrado na Figura 6. Neste caso, tem-se um exemplo de síntese de um copolímero dibloco.



Iniciação



Propagação

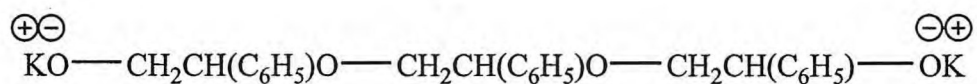
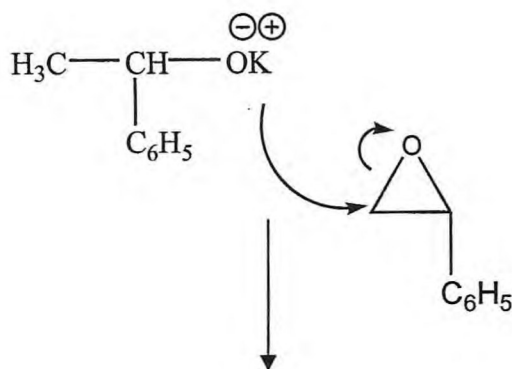


Figura 4. Mecanismo de polimerização do óxido de estireno, usando iniciador bifuncional.



Iniciação



Propagação

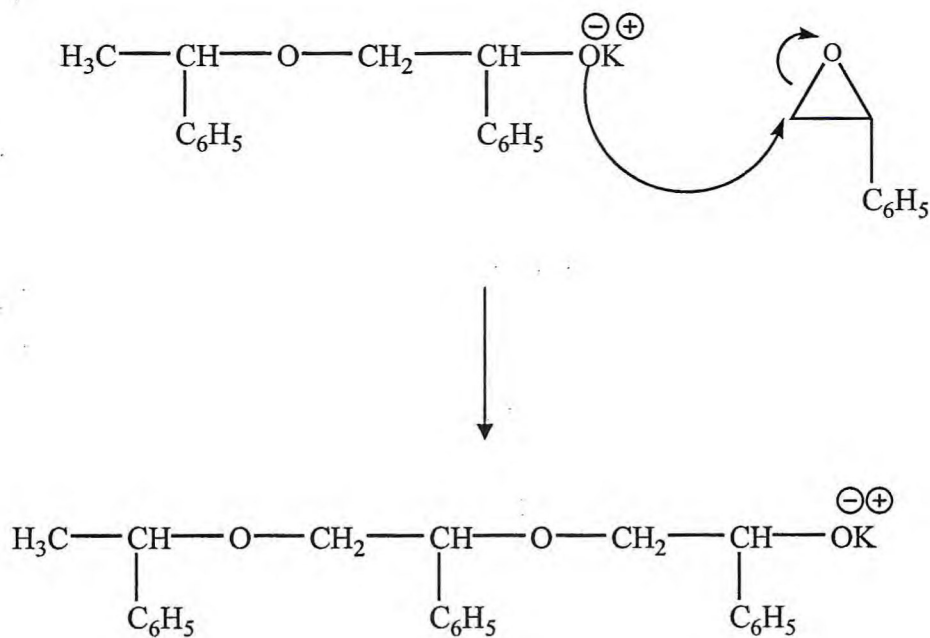


Figura 5. Mecanismo de polimerização do óxido de estireno, usando iniciador monofuncional.

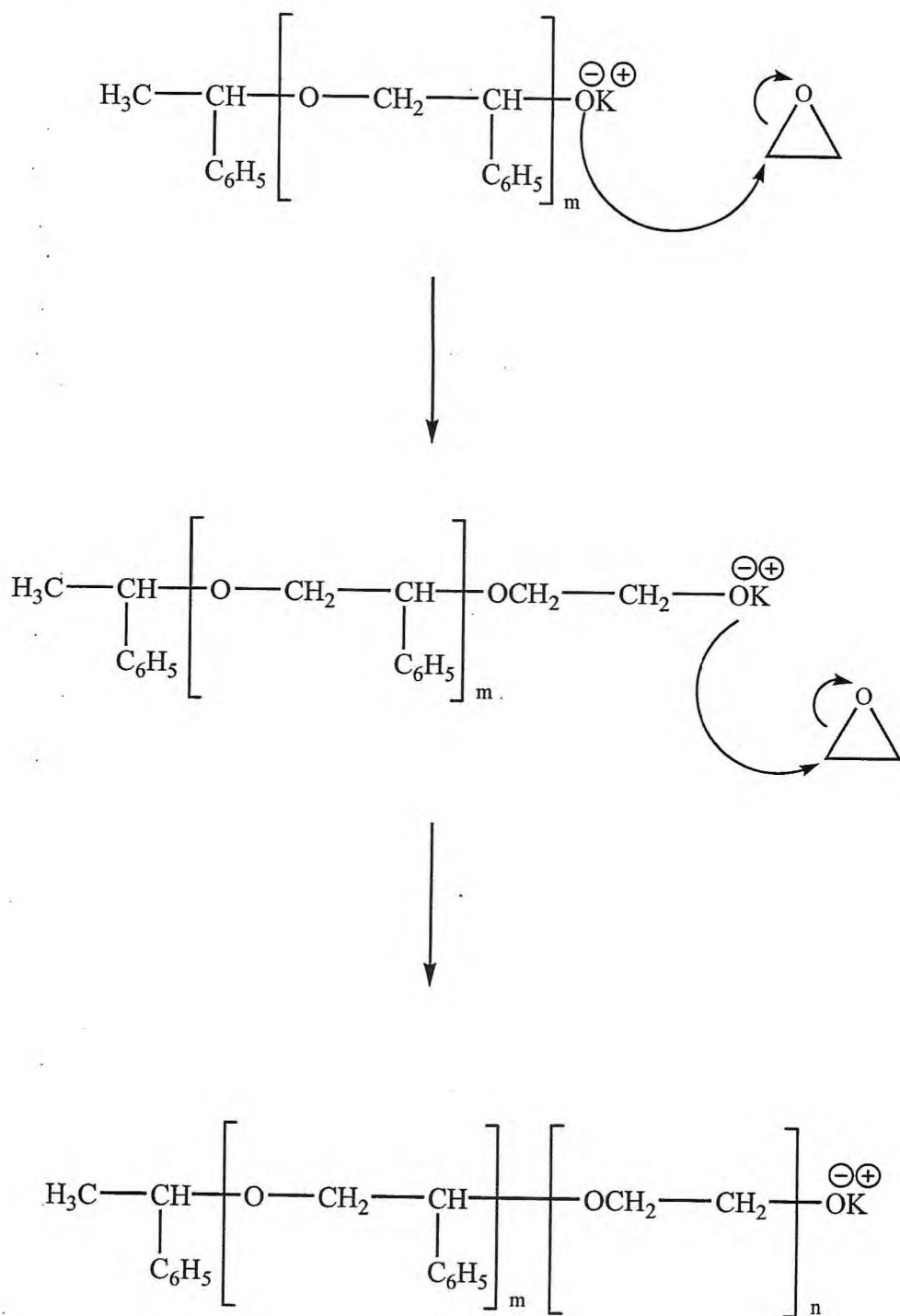


Figura 6. Mecanismo de adição do segundo monômero (óxido de etileno) ao precursor para obtenção de copolímero dibloco.

1.1.3. COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO ÓXIDO DE ETILENO/ÓXIDO DE PROPILENO

"Pluronics" é um dos nomes comerciais dos copolímeros triblocos solúveis em água do tipo EPE (onde E denota um grupo poli(óxido de etileno) $[-OCH_2CH_2]$ e P denota um grupo poli(óxido de propileno) $[-OCH_2CH(CH_3)]$). Dependendo de suas massas molares estes copolímeros variam de líquidos fluidos a pastas e sólidos e têm uma grande variedade de aplicações seja na área química ou farmacêutica, na formulação de lubrificantes, pinturas, detergentes, surfactantes e medicamentos (Croy e Kwon, 2004; Sastry e Hoffmann, 2004). Além disso, sistemas baseados nestes copolímeros exibem também uma variedade de propriedades biológicas úteis. Por exemplo, observou-se o aumento da taxa de cicatrização de ferimentos e queimaduras, a prevenção de adesões pós-operatórias e de necrose celular e a melhoria da quimioterapia do câncer em formulações que utilizaram estes copolímeros (Kabanov, Batrakova e col, 2002).

As propriedades de associação dos copolímeros do tipo EPE têm sido pesquisadas através de uma variedade de métodos que incluem Espalhamento de Luz Dinâmico e estático, como descrito na literatura (Chu e Zhou, 1987; Chu e Zhou, 1988; Chu, 1995; Malmsten e Lindmann, 1992; Yu, 1992; Wanka e col, 1994; Hvidt e col, 1994; Almgren, 1995). As propriedades sob investigação são geleificação, solubilização, micelização, agregação e comportamento de fase geral, as quais dependem da massa molar total do copolímero e dos tamanhos relativos dos blocos individuais. Muitas das aplicações dos copolímeros EPE são baseadas em sua habilidade de auto-associação em solução. As propriedades das soluções aquosas dos copolímeros EPE são fortemente dependentes da temperatura, de modo que um pequeno aumento neste parâmetro pode resultar em uma redução dramática no valor da concentração micelar crítica (Chu e Zhou, 1996). Somente um pequeno número de copolímeros diblocos tipo EP solúveis em água estão comercialmente disponíveis, em comparação aos triblocos correspondentes. No entanto, eles são surfactantes importantes e também podem ter usos potenciais no desenvolvimento de formulações de fármacos.

A nomenclatura Pluronic inclui uma letra, 'F', 'P', ou 'L', seguida de um código numérico de dois ou três dígitos. As letras representam "flake" (escamas), pasta ou líquido, respectivamente, e o código numérico define os parâmetros estruturais do copolímero em bloco. O último dígito deste código dá a estimativa do conteúdo em peso

do bloco de óxido de etileno em termos percentuais. Por exemplo, o dígito é 8 indica que o conteúdo em peso do bloco de óxido de etileno corresponde a 80%; se o dígito é 1, este conteúdo corresponde a 10%. Os dois primeiros dígitos codificam a massa molar do bloco central P. Para decifrar o código, deve-se multiplicar o número correspondente por 300 para obter a massa molar aproximada em Da. Desta forma, a nomenclatura Pluronic fornece uma aproximação conveniente para a estimativa das características do copolímero na ausência de literatura de referência. Por exemplo, o código "F127" define um copolímero sólido, com um bloco central de 3600 Da (12 x 300) e 70% em peso de E. As características moleculares precisas de cada copolímero em bloco Pluronic® são fornecidas pelo fabricante e também podem ser encontrados na literatura (Kabanov, Lemieux e col., 2002).

1.1.4. COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO ÓXIDO DE ETILENO/ÓXIDO DE ESTIRENO

Publicações sobre a síntese e as propriedades das soluções aquosas dos copolímeros em bloco do tipo ES e ESE, onde E denota uma unidade repetitiva de oxietileno [-OCH₂CH₂] e S denota uma unidade repetitiva de óxido de estireno [-OCH₂CH(C₆H₅)], começaram a emergir dos laboratórios da Universidade de Manchester a partir da década de 1990 (Mai e col., 1998; Mai e col., 2000; Kelarakis e col., 2001; Crothers e col. 2001; Crothers e col., 2002; Yang e col., 2003). Heatley e col. (1991) e Sepulchre e col. (1988) realizaram estudos de ¹³C RMN em copolímeros ES e ESE e em óxido de poliestireno e estes trabalhos formam a base para a caracterização dos copolímeros do tipo ES. Esta pesquisa evidenciou a ausência de uma reação de transferência durante a síntese, produzindo copolímeros com um grau alto de pureza, se comparado aos copolímeros do tipo EP. Evidências da literatura (Booth e Attwood, 2000) mostram que copolímeros do tipo ES têm uma concentração micelar crítica extremamente baixa, quando comparada à dos copolímeros do tipo EP, por exemplo, indicando que uma unidade de S é um bloco altamente hidrofóbico. A micelização acontece, portanto, em um comprimento de cadeia hidrofóbica muito mais curto do que para copolímeros do tipo EP.

1.1.5. INTRODUÇÃO À MICELIZAÇÃO

Em temperaturas e concentrações suficientemente baixas, as moléculas dos copolímeros em bloco, os unímeros, formam uma dispersão molecular em água.

Micelas são agregados macromoleculares não covalentes dinâmicos em natureza e forma. O processo de micelização ocorre quando um copolímero em bloco é dissolvido em um líquido que é termodinamicamente um não-solvente para um dos seus blocos componentes, mas um bom solvente para o outro. A propriedade de micelização é comum a muitas moléculas de natureza anfifílica que contém tanto um componente hidrofílico quanto hidrofóbico. Em contato com a fase aquosa, as moléculas do copolímero tenderão a sofrer difusão pelo líquido e adsorção na interface ar/líquido com as cadeias orientadas de tal modo que o bloco hidrofóbico seja orientado para fora da solução. À medida que o número de moléculas de copolímero adsorvidas à superfície aumenta, aumentando a temperatura do sistema ou a concentração de copolímero, observa-se uma diminuição gradual da tensão superficial da solução e da energia de Gibbs. Quando a interface torna-se saturada com as cadeias de copolímero adsorvido, forma-se a chamada monocamada de Gibbs e qualquer aumento subsequente em temperatura ou concentração de copolímero não provocam nenhum decréscimo subsequente na tensão superficial (Figura 7).

Uma vez que a temperatura e concentração da solução estejam adequadamente altas, a tensão de superfície permanece constante e a energia de Gibbs já não diminui por este mecanismo. Um mecanismo alternativo é adotado por meio do qual as moléculas de copolímero, que existiam previamente como unímeros, se agregam para formar partículas coloidais chamadas micelas (McBain, 1913). Os blocos hidrofóbicos se organizam na parte interna das micelas (“core”) e os blocos hidrofílicos formam a sua parte externa (“corona”).

Quando os copolímeros entram em contato com água, o bloco hidrofílico forma pontes de hidrogênio com as moléculas de água, mas o mesmo não acontece com o bloco hidrofóbico. Uma região hidrofóbica hidratada é produzida com elevado ordenamento estrutural das moléculas de água, o que provoca uma diminuição da entropia e da entalpia do sistema. Quando as micelas começam a se formar, os blocos hidrofóbicos se associam para minimizar o contato com a fase aquosa circunvizinha e a estrutura de água altamente ordenada previamente formada é destruída, causando um aumento na entropia e entalpia com uma diminuição global da energia livre de Gibbs. Este processo é conhecido como o efeito hidrofóbico (Tanford, 1980) e geralmente é reconhecido como a força motriz principal para o processo de micelização. Este mecanismo eventualmente estabelece um equilíbrio dinâmico entre unímeros e micelas em solução aquosa. Em concentrações e temperaturas suficientemente altas, as micelas

podem empacotar para formar fases cristalinas líquidas e géis. Ajustando o comprimento e os tamanhos dos blocos, como também controlando a massa molar total, é possível controlar as propriedades micelares e de geleificação.

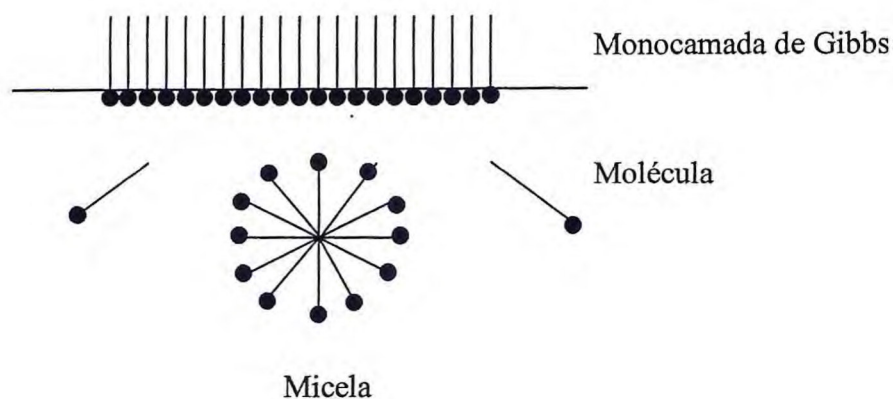


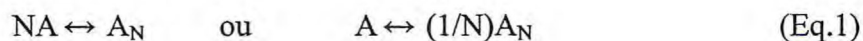
Figura 7. Ilustração da formação de uma micela.

A formação de micelas requer a existência de duas forças opostas: uma força atrativa de agregação ou associação, surgindo do efeito hidrofóbico, descrito anteriormente, e uma força repulsiva que previne o crescimento ilimitado das micelas em uma fase macroscópica distinta. Em meio aquoso, para anfífilos que contém grupos iônicos que se localizam na superfície das micelas, a força repulsiva surge principalmente da repulsão eletrostática entre as cargas, enquanto que no caso de anfífilos não-iônicos, cuja maioria contém blocos de óxido de polietileno, ocorre uma preferência pela hidratação em oposição à auto-associação.

1.1.5.1. TERMODINÂMICA DA MICELIZAÇÃO

A formação de micelas para a maioria dos copolímeros em bloco ocorre pelo chamado processo de “associação fechada”, onde se estabelece efetivamente em equilíbrio entre os unímeros e as micelas. Por outro lado, alguns copolímeros podem formar micelas pelo chamado processo de “associação aberta”, isto é, um processo em etapas no qual os copolímeros formam unímeros, dímeros, trímeros, etc.

Para o modelo de “associação fechada”, com uma pequena distribuição do número de associação, N , o equilíbrio entre as moléculas de copolímeros (A) e as micelas (A_N) pode ser escrito:



Assumindo-se que a solução é ideal, com exceção de interações intramicelares, a constante de equilíbrio, K , pode ser escrita:

$$K = [A_N]_{\text{eq}}^{(1/N)} / [A]_{\text{eq}} \quad (\text{Eq.2})$$

onde $[A_N]_{\text{eq}}$ é a concentração das micelas no equilíbrio e $[A]_{\text{eq}}$ é a concentração de unímeros no equilíbrio. Se existe uma estreita distribuição do número de associação e $N \gg 1$, por exemplo, 50 ou mais, $1/N \rightarrow 0$ e $[A_N]_{\text{eq}} \rightarrow 1$, a equação anterior pode se escrita:

$$K \rightarrow 1/[A]_{\text{eq}} \quad (\text{Eq.3})$$

Tomando $[A]_{\text{eq}}$ como a cmc, expressa em unidades de $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, a energia livre tomada a partir da relação $\Delta G^\circ = -RT \ln K$ pode ser escrita como:

$$\Delta_{\text{mic}}G^\circ = RT \ln(\text{cmc}) \quad (\text{Eq.4})$$

onde $\Delta_{\text{mic}}G^\circ$ é a energia livre padrão de micelização. A partir da relação termodinâmica $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$, a variação de entalpia padrão durante a micelização de um mol de copolímero pode ser escrita:

$$\Delta_{\text{mic}}H^\circ = R[d \ln(\text{cmc}) / d(1/T)] \quad (\text{Eq.5})$$

Assim, ΔH° pode ser determinada a partir do coeficiente angular da curva de $\ln(\text{cmc})$ versus T^{-1} . Quando ΔG° e ΔH° são obtidos por este método, a entropia padrão de micelização pode ser calculada por:

$$\Delta S^\circ = (\Delta H^\circ - \Delta G^\circ) / T \quad (\text{Eq.6})$$

Em meio aquoso, a força motriz para micelização de copolímeros em bloco não-iônicos é a variação de entropia $\Delta S^\circ > 0$, com a mudança de entalpia ($\Delta H^\circ > 0$) sendo

desfavorável para a micelização. O fato de que $\Delta H^\circ > 0$ significa que a micelização nestes sistemas é favorecida pelo aumento da temperatura.

O outro modelo envolve todos os possíveis tamanhos de agregados que começam com dímeros até auto-associação indefinida. É conseqüentemente conhecido como *associação aberta* e é um processo em etapas:



" " "

Algumas suposições podem ser feitas para este processo de associação aberta, como por exemplo, que as constantes de equilíbrio para cada fase são iguais. Neste caso, à medida que a concentração de anfífilos aumenta, há um leve aumento tanto na extensão de associação, como no número de associação médio e a distribuição de tamanhos de partícula segue a distribuição mais provável.

Em associação aberta, não faz sentido definir uma cmc. Em associação fechada o número de micelas aumenta rapidamente com a concentração dentro de uma pequena faixa de concentração e a cmc é um conceito significativo.

1.1.5.2. FATORES QUE AFETAM A MICELIZAÇÃO

Para soluções aquosas de blocos de copoli(oxialquileno)s não iônicos, a micelização é endotérmica. Acima da cmc, qualquer molécula de copolímero adicionada ao sistema é associada dentro das micelas. Em concentrações bem acima da cmc, o soluto pode ser predominantemente micelar. Conseqüentemente, muitas propriedades físicas mudam significativamente na cmc. Em concentrações não muito acima da cmc, soluções micelares apresentam-se como fluidos desorganizados, mas a altas concentrações, as micelas podem empacotar dentro de uma estrutura viscosa organizada, ou seja, um gel.

1.1.5.2.1. BLOCO HIDROFÓBICO E HIDROFÍLICO

A força determinante no processo de micelização é a tendência dos componentes hidrofóbicos de um copolímero em bloco se agregarem via um processo de direção entrópica, discutido como efeito hidrofóbico. Tem sido aceito que o bloco hidrofóbico de um copolímero determina as características de associação em solução aquosa.

Chu e Zhou (1996) e Booth e Attwood (2000) relatam o efeito do comprimento e composição química do bloco hidrofóbico do copolímero em suas propriedades de micelização, em concentração e temperatura relativamente baixas.

Booth e Attwood (2000) relatam que copolímeros em bloco E/P com arquitetura do tipo EPE (tribloco) apresentam o efeito da mudança no comprimento do bloco hidrofóbico e/ou hidrofílico nas propriedades micelares. Por exemplo, a 30 °C, o copolímero $E_{13}P_{30}E_{13}$ tem cmc em torno de $5,2 \text{ mmol dm}^{-3}$, mas quando o comprimento do bloco terminal hidrofílico aumenta para 80 unidades, a cmc aumenta três vezes e meia, apresentando um valor igual a 18 mmol dm^{-3} .

1.1.5.2.2. ARQUITETURA DO BLOCO

Espera-se que a arquitetura do bloco tenha influência no processo de auto-associação dos copolímeros em condições diluídas e concentradas. A Figura 8 mostra as diferentes conformações das micelas formadas por copolímeros diblocos e triblocos. Para diblocos, num solvente seletivo para um dos blocos, e para triblocos, num solvente seletivo para os blocos terminais, a micelização geralmente obedece ao modelo convencional de associação fechada. O processo produz uma micela formada de um núcleo hidrofóbico relativamente compacto (Figura 8 (a)).

Um copolímero tribloco solubilizado num solvente seletivo para o bloco central forma uma estrutura na forma de flor de maneira que os dois blocos terminais formam o núcleo da micela e o bloco central toma a forma de laço, conforme mostrado na Figura 8(b). Também é possível ocorrer ligações das micelas devido à parte do bloco insolúvel no núcleo que se estende para o solvente se associar com uma segunda micela (Stainsby e Alexander, 1950).

Mai e colaboradores (1998) e Zhou e colaboradores (1996) relatam a influência que a arquitetura do bloco tem no valor da cmc. Concorde-se que para uma dada composição e temperatura as cmc's são na ordem: $EX \ll EXE < XEX$, onde X representa o grupo hidrofóbico.

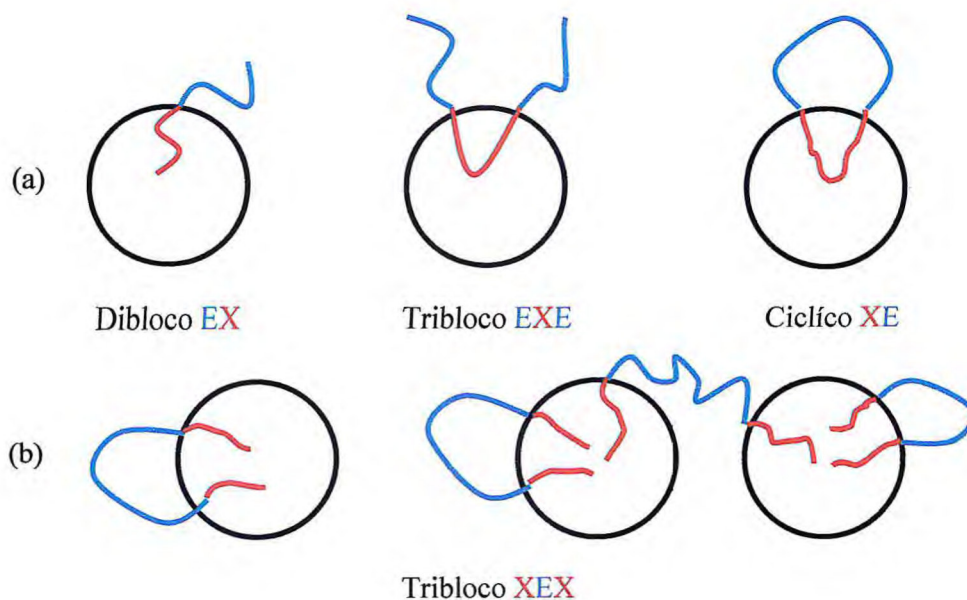


Figura 8. Representação esquemática das possíveis conformações micelares de copolímeros diblocos e triblocos.

1.1.6. FORMAS DAS MICELAS

Micelas em solução são termodinamicamente estáveis, isto é, $\Delta G_{mic}^{\circ} < 0$, mas os anfífilos individuais nas micelas são contínua e reversivelmente trocados com os anfífilos em solução. Por conseguinte, as micelas individuais não mantêm uma identidade distinta inalterada. No equilíbrio, há uma distribuição de tamanho e o número de associação é uma média de uma distribuição estreita de equilíbrio.

Além de temperatura e concentração e da presença de aditivos (Bahadur e col., 1992), a forma das micelas é influenciada fortemente pela área superficial por molécula, a_0 , na interface cadeia hidrofóbica/água e os volumes relativos dos componentes hidrofílicos e hidrofóbicos. As possíveis formas das micelas são: esferas, elipsóides, varas e lamelas. Para um “core” micelar esférico, a relação entre o volume da cadeia hidrofóbica, v , do raio do “core” micelar, r , e a_0 é:

$$v = a_0 r / 3 \quad (\text{Eq.9})$$

O raio do “core” micelar é limitado pela extensão máxima possível da cadeia hidrofóbica. À medida que a associação aumenta, o crescimento das micelas esféricas está limitado. A entropia desfavorável da conformação estendida da cadeia hidrofóbica

e a necessidade de manter a cobertura do bloco hidrofóbico pelo bloco hidrofílico são as principais explicações para uma mudança na forma da micela.

1.2. SOLUBILIZAÇÃO DE FÁRMACOS

A solubilidade é um fator essencial para a eficácia do fármaco, independentemente da rota de administração. Isto se constitui em grande desafio para as indústrias farmacêuticas, uma vez que aproximadamente metade das substâncias ativas é insolúvel ou pouco solúvel em água (Patravale e col., 2004). Um fator limitante para o desempenho *in vivo* de fármacos pouco solúveis em água, após a administração oral, é a sua resistência em serem umedecidos e dissolvidos nos fluidos do trato gastrointestinal. O aumento da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água é, portanto, muito importante para incrementar as suas biodisponibilidades.

Uma variedade de sistemas coloidais de liberação, incluindo lipossomas, nanoesferas, nanocápsulas, dendrímeros e ciclodextrinas, tem sido investigada quanto aos seus potenciais como carreadores, na tentativa de aumentar a solubilidade destes fármacos e otimizar as suas ações terapêuticas (Ammar, e col., 2006; Savić e col., 2006; Svenson e Tomalia, 2005).

Neste contexto, um desafio amplamente reconhecido na formulação de medicamentos orais é o desenvolvimento de formas farmacêuticas líquidas para fármacos pouco solúveis em água. Das várias formulações que têm sido exploradas, aquelas que utilizam micelas poliméricas têm despertado atenção em função das características vantajosas desses sistemas (Kataoka e col., 1992; Jones e Leroux, 1999; Adams e col., 2003). Conforme exposto na seção 1.1.5., micelas poliméricas são formadas pela associação de copolímeros em bloco anfífilicos em meio aquoso, formando estruturas nanoscópicas do tipo “core”-“corona”, nas quais o “core” hidrofóbico atua como um reservatório para o encapsulamento de fármacos, proteínas e DNA e a “corona” faz a interface com o meio biológico (Aliabadi e Lavasanifar, 2006).

A característica que torna as micelas poliméricas sistemas mais interessantes do que outros sistemas coloidais de liberação é a versatilidade da estrutura “core” – “corona”. Fármacos hidrofóbicos podem ser solubilizados no núcleo das micelas de copolímeros de bloco e transportados em concentrações que excedem a sua solubilidade intrínseca em água. A flexibilidade da estrutura micelar polimérica permite a síntese de carreadores especialmente desenvolvidos de acordo com as propriedades físico-químicas do fármaco a ser incorporado, a patofisiologia da doença, o sítio de ação do

fármaco e a rota de administração proposta. Variações na estrutura química do bloco que forma o “core” da micela podem melhorar o encapsulamento do fármaco e a estabilidade da micela e controlar a taxa de liberação do fármaco. A estrutura química do copolímero em bloco também pode ser modificada para melhorar a especificidade do *carreador em relação a um órgão ou tecido* ou tornando-o sensível a um determinado estímulo externo. Dessa forma, micelas poliméricas têm sido utilizadas como sistemas coloidais de liberação em função de três parâmetros críticos para o desempenho do fármaco: solubilidade, liberação e distribuição (Aliabadi e Lavasanifar, 2006).

Os carreadores micelares poliméricos investigados como solubilizantes de fármacos podem ser divididos em três categorias: formadores de conjugados micela-fármaco, nano-carreadores micelares e micelas complexas poli-íon (Aliabadi e Lavasanifar, 2006). Na primeira categoria, a incorporação e estabilização do fármaco dentro do carreador micelar ocorrem através da formação de ligações químicas hidrolisáveis entre os grupos funcionais da estrutura do polímero e do fármaco. Na segunda categoria, a formação de interações hidrofóbicas ou ligações de hidrogênio entre o fármaco e o copolímero em bloco fornecem a base para a solubilização e estabilização entre o fármaco e as micelas poliméricas. Na terceira categoria, a incorporação do fármaco é promovida através de interações eletrostáticas entre polímero e fármaco.

A incorporação de fármacos em micelas poliméricas pode ser realizada através de diversos métodos. Além da adição direta e incubação do fármaco com o copolímero em bloco em meio aquoso, outros métodos empregados são: diálise (Kim e col., 2001; Lavasanifar e Kwon, 2000; Allen e col., 2000; Rapoport e col., 1999), emulsão óleo/água (La, Okano e Kataoka, 1996; Kwon e col., 1997; Kataoka e col., 2000), evaporação do solvente (Lavanifar, Samuel e Kwon, 2002; Zhang e col., 1996), evaporação do co-solvente (Aliabadi e col., 2005; Shuai e col., 2004; Liu e col., 2001) e liofilização (Le Garrec e col., 2004). Pelo método de diálise, o copolímero em bloco e o fármaco são dissolvidos em um solvente orgânico imiscível em água, seguindo-se a diálise dessa solução contra água. A substituição gradual do solvente orgânico por água provoca a associação do copolímero em bloco e o encapsulamento do fármaco. O método de emulsão óleo/água compreende a dissolução do fármaco em um solvente orgânico imiscível em água, seguida pela adição da fase orgânica à fase aquosa sob vigorosa agitação. O polímero pode estar dissolvido tanto na fase aquosa quanto na fase orgânica; o solvente orgânico é então removido por evaporação. O método de

evaporação do solvente é baseado na dissolução do fármaco e do polímero em um solvente orgânico volátil, seguida da completa evaporação desse solvente, conduzindo à formação de um filme fármaco/polímero.

Dentre os copolímeros utilizados em estudos de solubilização de fármacos, vale a pena mencionar aqueles formados por blocos hidrofílicos de polietileno glicol (PEO) e por blocos hidrofóbicos de poliésteres (Agrawal e col., 2006; Zhang e col., 1997) e poli(aminoácidos) (Sezgin, Yüksel e Baykara, 2006; ^bLavasanifar, Samuel e Kwon, 2002; Adams, Lavasanifar e Kwon, 2003) e classificados como formadores de conjugados micela-fármaco. A conjugação entre fármaco e copolímeros é consequência, principalmente, da formação de ligações covalentes entre grupos funcionais da estrutura dos copolímeros e grupos reativos das moléculas dos fármacos. No caso dos copolímeros em bloco do tipo PEO-b-poli(éster), o grupo funcional é hidroxila; para os copolímeros do tipo PEO-b- poli(aminoácidos), os grupos funcionais compreendem aminas, hidroxilas e carbonilas, o que permite a conjugação de diferentes entidades químicas à cadeia polimérica.

Burt e colaboradores solubilizaram PTX em copolímeros em bloco poli(D, L-lático), poli(D,L-ácido lático-co-caprolactona), ou poli (ácido glicólico-co-caprolactona) e metoxipolietilenoglicol, obtendo percentuais de incorporação de 5-10%, 15-25% e 15-20%, respectivamente (Burt e col., 1999).

Piskin e colaboradores (1995) estudaram a solubilização do fármaco anticâncer Doxorubicina (Dox) em copolímero do tipo PEO-b-poli(éster), PEO-b- poli(D,L Lactídeo), relatando um aumento da solubilidade do fármaco em meio aquoso de 50µg/mL para 12 mg/mL, o que corresponde a um aumento de 12.000 vezes. Zhang e col. (1997) relataram um aumento de 5000 vezes da solubilidade em água do fármaco anticâncer Paclitaxel (PTX), de 1µg/mL para 50 mg/mL, pelo método de evaporação do solvente, para estudos de solubilização com o mesmo copolímero.

Outros copolímeros da categoria dos PEO-b-poli(éster) utilizados em estudos de solubilização de fármacos foram PEO-b-poli(caprolactona) e PEO-b-poli(ácido lático). Jette e colaboradores (2004) estudaram a solubilização de fenofibrato, fármaco indicado para reduzir os níveis de colesterol sanguíneo, por micelas de PEO-b-poli(caprolactona) com massas molares de 1000, 2500 e 4000 g/mol, obtendo resultados de 90 µg/mL, um aumento de 900 vezes em relação à concentração do fármaco em água (0,1µg/mL). Os níveis de encapsulamento foram superiores a 90% para os copolímeros com massas

molares de 2500 e 4000 g/mol. Experimentos de Cromatografia por Exclusão de Tamanho (SEC) mostraram que as micelas desses copolímeros incorporadas com o fármaco eluíram intactas, indicando uma boa estabilidade cinética (Jette e col., 2004).

Aliabadi e colaboradores (2005) também investigaram micelas de PEO-b-poli(caprolactona) como solubilizante de Ciclosporina A (Cs A), como alternativa ao surfactante Cremophor EL, presente em sua formulação comercial intravenosa, pelo método de evaporação do co-solvente. A solubilidade da Cs A em meio aquoso aumentou de 23 $\mu\text{g/mL}$ para 1,3 mg/mL, o que é comparável aos níveis atingidos intravenosamente com a formulação com Cremophor EL (0,5-2,5 mg/mL). Além disso, foi observado um perfil de liberação controlada para o fármaco, com uma retenção de 94% do conteúdo de Cs A por um período de 12 horas, o que foi atribuído à menor mobilidade do “core” do copolímero PEO-b-poli(caprolactona), quando comparado à do “core” do surfactante Cremophor EL.

Allen e colaboradores (2000) mostraram que as micelas de PEO-b-poli(caprolactona) foram carreadores eficientes para a dihidrotestosterona (DHT) pelo método de diálise, aumentando a sua solubilidade em água de 28 $\mu\text{g/mL}$ para 1,3 mg/mL. As micelas incorporadas com DHT mostraram um perfil de liberação controlada em tampão-fosfato a 37°C. A liberação da solução controle foi completa em três horas, enquanto que, para soluções micelares com concentrações de 8 e 40 mM, foram de 90% de DHT para a em 8 dias para a primeira concentração e 100% de DHT em 30 dias para a segunda concentração.

Na categoria dos PEO-b-poli(aminoácidos), há estudos de solubilização relatados para os copolímeros em bloco PEO-b-poli(β -benzil-L-aspartato), PEO-b-poli(β -benzil-L-glutamato), PEO-b-poli(ácido aspártico), PEO-b-poli(L-lisina), PEO-b-poli(ácido glutâmico), PEO-b-poli(N-hexil-L-aspartamida) e PEO-b-poli(N-hexilestearato-L-aspartamida), dentre outros.

A solubilização do fármaco Dox em micelas de PEO-b-poli(β -benzil-L-aspartato) foi investigada pelos métodos de diálise (Kwon e col., 1995) e emulsão óleo/água (Kataoka e col., 2000; Kwon e col., 1997), relatando-se níveis de encapsulamento da ordem de 10-20%. Níveis de encapsulamento mais elevados, variando de 33 a 53%, foram relatados para a solubilização desse fármaco em micelas de PEO-b-poli(β -benzil-L-glutamato) (Jeong e col., 1999) e PEO-b-poli(ácido aspártico) (Yokoyama e col., 1998 ; Yokoyama e col, 1994) pelo mesmo método.

Pelo método de complexação, Nishiyama e colaboradores (1999) incorporaram Cisplatina (Cis) em micelas de PEO-b-poli(ácido aspártico), obtendo um nível de encapsulamento de 49% e um perfil de liberação controlada, com um período de mais de 20h para liberação de 50% do fármaco. Posteriormente, Nishiyama e Kataoka (2001) incorporaram Cis em misturas do copolímero em bloco PEO-b-poli(α,β -ácido aspártico) e do homopolímero poli(α,β -ácido aspártico), em diferentes razões molares de poli(α,β -ácido aspártico), obtendo nível de encapsulamento de 61% para uma razão molar de 1,46. Os copolímeros PEO-b-poli(L-lisina) e PEO-b-poli(ácido glutâmico) também foram empregados em estudos de solubilização de Cis, obtendo-se níveis de encapsulamento da ordem de 5,5 (Bogdanov e col., 1996) e 31-39% (^aNishiyama e col., 2003; ^bNishiyama e col., 2003), respectivamente. Outros fármacos como Indometacina (Ind) e Di-cloro-(1,2-diamino ciclohexano) platina (II) (DACHPt)

A solubilização de Anfotericina B (Anf B), um fármaco anti-fúngico, em micelas dos copolímeros PEO-b-poli(β -benzil-L-aspartato), PEO-b-poli(N-hexil-L-aspartamida) e PEO-b-poli(N-hexilestearato-L-aspartamida) foi estudada por diversos métodos. Yu e col. (1998) investigaram a solubilização de Anf B em micelas de PEO-b-poli(β -benzil-L-aspartato) por diálise. Por esse método, a concentração de Anf B atingiu níveis de 57 a 141 $\mu\text{g/ml}$, em comparação com uma concentração inicial em água de 0,5 $\mu\text{g/ml}$, correspondendo a uma eficiência de encapsulamento de 27-30% para uma razão molar de Anf B:copolímero de 0,4:1,0. Em sua formulação padrão, a Anf B provoca a lise de hemácias em concentração de 3,0 $\mu\text{g/ml}$ em 30 min. Entretanto, não foi observada hemólise por um período de 5,5 horas na presença das micelas de Anf B/PEO-b-poli(β -benzil-L-aspartato) naquela concentração, indicando um perfil de liberação controlada do fármaco.

Lavasanifar, Samuel e Kwon (2001) aplicaram os métodos de diálise e evaporação do solvente para encapsular Anf B em micelas de PEO-b-poli (N-hexil-L-aspartamida). Pelo método de evaporação do solvente, o nível de encapsulamento foi de 73%, com 0,35 mol de fármaco/mol de copolímero, enquanto que, pelo método de diálise, o nível de encapsulamento foi de 60%, com 0,25 mol de fármaco/mol de copolímero. A principal vantagem do método de evaporação do solvente em relação ao de diálise foi a redução da hemólise provocada pela Anf B. Os autores relataram 100% de hemólise causada pel Anf B em concentração de 1 $\mu\text{g/ml}$. Após o encapsulamento do fármaco por diálise, a hemólise ocorreu em percentuais de 50 e 100% e em

concentrações de 3,8 µg/ml e 6,0 µg/ml, respectivamente. Pelo método de evaporação do solvente, as micelas incorporadas com o fármaco foram não-hemolíticas até 15 µg/ml.

Adams, Andes e Kwon (2003) investigaram a solubilização de Anf B em derivados de PEO-b-poli(L-aspartato) pela incorporação de cadeias laterais de estearato com níveis de esterificação de 46 e 91%. Os autores relataram que o grau de esterificação modulou os níveis de encapsulamento e a solubilidade do fármaco, que foram da ordem de 70% e 47 µg/ml e 63 e 42 µg/ml, respectivamente. O perfil hemolítico para as formulações micelares com 91% de grau de esterificação foi de 4% em 9h, 20% em 16h e 40% em 24 h, enquanto que para as formulações com 46% de grau de esterificação, observou-se rápido processo hemolítico.

Outra classe de copolímeros também amplamente utilizada em estudos de solubilização são os copolímeros triblocos lineares Poloxamer (Pluronic® ou Synperonic®), comercialmente disponíveis em uma ampla faixa de massas molares e razões EO/PO (Collett e Tobin, 1979; Allen e col., 1999; Kabanov e col., 2002; Oh e col., 2004). Embora copolímeros em bloco ramificados chamados Poloxamine (Tetronic®) também estejam comercialmente disponíveis, o primeiro grupo tem sido mais extensivamente estudado (Chiappetta e Sosnik, 2007).

Os Poloxamer ou Pluronic® são organizados em uma estrutura de tribloco do tipo $E_mP_nE_m$, o que resulta em um copolímero de natureza anfifílica. Os tamanhos dos blocos hidrofílicos, E_m , e hidrofóbicos, P_n , podem ser alterados para variar o tamanho, hidrofílicidade e lipofílicidade, permitindo o controle das propriedades dos polímeros, e também do tamanho e da morfologia das micelas (Rosler e col., 2001). Esses copolímeros são sintetizados por polimerização seqüencial dos monômeros EO e PO na presença de um catalisador alcalino, como hidróxido de sódio ou potássio (Schmolka, I.R., 1977), conforme descrito na seção 1.1.2.2. Em particular, a variação da natureza, do comprimento e/ou da arquitetura do bloco hidrofóbico pode conferir interessantes propriedades de micelização e solubilização de fármacos. A hidrofobicidade pode ser modulada, por exemplo, pela utilização de óxido de butileno e óxido de estireno, como monômeros mais hidrofóbicos, mantendo-se a simplicidade da síntese. Além disso, as micelas desses copolímeros resistem à adsorção de proteínas e à adesão celular, em virtude da corona hidrofílica de blocos de óxido de etileno, de modo que os conteúdos do núcleo hidrofóbico são protegidos efetivamente contra a hidrólise e a degradação

enzimática. Além disso, a corona previne reconhecimento pelos macrófagos do sistema retículo endotelial e a conseqüente eliminação prematura das micelas da circulação sangüínea. O microdomínio hidrofóbico, por sua vez, funciona como um reservatório para incorporação de vários agentes de diagnóstico e fármacos lipofílicos. Assim, a denominada *propriedade de âncora da corona*, resulta em tempos prolongados de permanência na circulação, permitindo a administração de fármacos por períodos mais longos (Kabanov, Batrakova e Alakhov, 2002, 2002).

A Tabela 1 apresenta o sumário dos estudos mais importantes sobre solubilização, estabilização e liberação de fármacos hidrofóbicos, utilizando os copolímeros Poloxamer.

Iglesias e colaboradores (2004) investigaram o efeito do Pluronic® F127 enxertado com blocos de ácido poliacrílico. Esses materiais aumentaram a solubilidade da camptotecina, um fármaco antitumoral em 3-4 vezes. Além disso, a estabilidade da forma ativa do fármaco foi melhorada. A quantidade de fármaco solubilizado por bloco de PO nos copolímeros modificados, sugerindo que a solubilização ocorre tanto no “core” hidrofóbico quanto na “corona” hidrofílica das micelas.

Rapoport e colaboradores combinaram o encapsulamento de Dox nas micelas poliméricas do Pluronic®P105, com meios adicionais para orientar a sua liberação do fármaco (Gao, Fain e Rapoport, 2005; Gao, Fain e Rapoport, 2004; Rapoport, 1999). Esta compreende o encapsulamento dos agentes quimioterápicos dentro das micelas poliméricas e da aplicação de local irradiação ultra-sônica sobre o tumor. Observou-se a redução das interações medicamentosas indesejadas e dos efeitos nocivos em tecidos saudáveis. Os principais mecanismos de ação biológica do ultrassom estão relacionados com a geração de energia térmica, a perturbação das membranas celulares sob a ação de microconvecção ou cavitação e o aumento da permeabilidade dos capilares sangüíneos. Conforme relatado pelos autores, o fármaco encapsulado se acumulou principalmente no interstício das células tumorais, e posteriormente, a irradiação da área afetada resultou em uma absorção mais eficaz pelas células alvo.

O mecanismo proposto por Stevenson-Abouelnasr (Stevenson-Abouelnasr, Hussein e Pitt, 2007), a fim de explicar a liberação do fármaco de modo mais eficiente pelas micelas, depende da destruição das micelas durante a aplicação do ultrassom. Por esse mecanismo, as micelas são destruídas por causa de cavitação produzida na área irradiada. Uma vez que a radiação ultrassom cessa, dois mecanismos independentes ocorrem: a reorganização das micelas e o re-encapsulamento da Dox. Esses mecanismos

Tabela 1. Estudos mais importantes sobre a solubilização, estabilização e liberação de fármacos com copolímeros Poloxamer (Chiappetta e Sosnik, 2007).

Fármaco	Atividade Farmacológica	Copolímero	Observações	Referência
Tropicamida	Ciclopéptico	L64, P65, F68, P75, F77, P84, P85, F87, F88, F127	A solubilidade do fármaco aumentou linearmente com o aumento da concentração de surfactante. Maiores solubilidades foram observadas para o maior teor de óxido de etileno.	Saettone e col., 1988.
Haloperidol	Neuroléptico	P85	Aumento da solubilidade do fármaco em 5 vezes.	Kabanov e col., 1989.
Morphine	Analgésico	F127	Aumento do efeito analgésico devido ao aumento no efeito de pico e liberação prolongada.	Witt e col., 2002.
Estriol	HRT	L64	Aumento da solubilidade do fármaco com a concentração do copolímero e com a temperatura.	Saito e col., 1994.
Epirubicin	Anticâncer	L61, P85, F108	Aumento considerável da inibição do crescimento de tumores em animais com as composições fármaco/copolímero.	Batrakova e col., 1996.
Naproxen	Anti-inflamatório não esteróide		Aumento da solubilidade do fármaco e do tempo de meia-vida.	Suh e col., 1997; Suh e Jun, 1996.
Doxorubicina	Anticâncer	P105	A irradiação local de tumores por ultrassom aumentou a acumulação do fármaco nas células tumorais, com decréscimo substancial das suas taxas de crescimento.	Gao, Fain e Rapoport, 2005; Stevenson-Abouelnasr, Hussein e Pitt, 2007; Rapoport, 1999; Hussein e col., 2002; Gao, Fain e Rapoport, 2004.
		P105	Decréscimo da proliferação <i>in vitro</i> de células de carcinoma de próstata em ratos.	McNealy e col., 2004.

Doxorubicina	Anticâncer	P85	Inibição do desenvolvimento de resistência multidroga em células de carcinoma mamário da linha MCF7.	Batrakova e col., 2006.
Pilocarpina	Miótico	F127	Aumento da atividade e biodisponibilidade.	Pepić, Jals'ejak e Jals'ejak, 2004.
Clonazepam		F68	Aumento da solubilidade do fármaco em 3,5 vezes.	Hammad e Muller, 1998.
Propranolol	Anti-hipertensivo	F127	Melhoria do perfil de liberação.	Pandit e Wang, 1998.
Vancomicina	Antibiótico	F127	Obtenção de perfil de liberação controlada e boa preservação do fármaco.	Veyries e col., 1999.
Piroxican	Anti-inflamatório	F68, F127	Obtenção de um melhor perfil de liberação.	Shin, Cho e Oh, 2000.
Indometacina		F68, F127	Aumento da solubilidade e estabilidade química do fármaco; obtenção de difusão prolongada do fármaco <i>in vitro</i> e alta tolerância fisiológica para aplicação ocular em coelhos.	Dimitrova e col., 2000.
Lidoca/Prilocaina	Analgésicos locais	F68, F127	A solubilização do fármaco na fase micelar depende do pH: quanto mais alto o pH, maior a solubilização.	Scherlund, Brodin e Malmsten, 2000.
Triancinolona	Glicocorticóide	F127 combinado com carbopol	Obtenção de um melhor perfil de liberação.	Shin e Kim, 2000.
Digoxina	Estimulante do músculo cardíaco	P85	Pluronic P85 pode melhorar o fornecimento de digoxina para o cérebro através da inibição do mecanismo de efluxo mediado pela P-glicoproteína.	Batrakova e col., 2001.
Griseofulvina	Antifúngico	Synperonic® P94	Synperonic P94 apresentou menor capacidade de solubilização do que copolímeros com poli(óxido de butileno) e poli(óxido de feniletleno) como bloco hidrofóbico.	Rekatas e col., 2001.

Maleato de timolol	Redutor da pressão intra-ocular	F127	Aumento da biodisponibilidade em 2,4 vezes.	El-Kamel,2002.
Propofol		F68, F127	Aumento da solubilidade do fármaco nas composições micelares de cada um dos copolímeros.	Momot e col., 2003.
Camptotecina	Anticâncer	F68, F127 e misturas dos copolímeros F127, L92 e copolímeros modificados com blocos de ácido poliacrílico	Aumento da solubilidade do fármaco nas composições micelares mistas dos copolímeros.	Baker e Naguib,2005.
Megestrol	Hormônio.	Misturas de F127 e L61	Aumento da biodisponibilidade.	Alakhov e col., 2004.
Nistatina	Antifúngico	F68, F98, P105, F127	Aumento da solubilidade de 20µM para 350µM; quanto maior a polaridade da molécula menor é a solubilidade.	Croy e Kwon, 2004.
Paclitaxel	Anticâncer	P123	Aumento da solubilidade do fármaco, do tempo na circulação sanguínea e da meia-vida; aumento da absorção do fármaco no plasma, ovário, útero, pulmão e rins; diminuição da absorção do fármaco no fígado e cérebro.	Han e col., 2006.
Octaethylporphine	Fotosensibilizante para tratamento de câncer	F127, F68, P85	Aumento da absorção oral estimada <i>in vitro</i> .	Sezgin, Yuksel e Baykara, 2007.
Meso-tetraphenyl porphine	Fotosensibilizante para tratamento de câncer	F127	Aumento da absorção oral estimada <i>in vitro</i> .	Sezgin, Yuksel e Baykara, 2007.

são responsáveis pela manutenção da liberação da droga em níveis parciais e da recuperação observada após a remoção da sonicação.

Witt e colaboradores (2002) estudaram o aumento da analgesia de um opióide petídico e da morfina usando o Pluronic® P85 abaixo e acima da cmc. Os resultados mostraram um claro aumento do efeito de pico e analgesia prolongada. Kabanov e colaboradores (2002) postularam que a cmc e o coeficiente de partição seriam as constantes termodinâmicas importantes para a determinação da estabilidade do carreador micelar e da liberação do fármaco em condições de equilíbrio.

Outros derivados foram desenvolvidos pelo grupo de Booth e Attwood, da Universidade de Manchester - Inglaterra, que sintetizou copolímeros em bloco de PEO com outros poliéteres tais como poli (óxido de butileno), poli (óxido de estireno) (Booth, Atwood e Price, 2006; Crothers e col., 2005; Rektas e col., 2001; Booth e Atwood, 2000), fenilglicidil éter (Taboada e col., 2006; Taboada e col., 2005). Nesses trabalhos, mostrou-se que soluções micelares de copolímeros em bloco preparadas com blocos hidrofílicos de óxido de etileno E e blocos hidrofóbicos de óxido de butileno [OCH₂CH(C₂H₅)], denotado por B, de óxido de estireno [- OCH₂CH(C₆H₅)], denotado por S ou de fenil glicidil éter [OCH₂CH(CH₂OC₆H₅)], denotado por Gli, são solubilizantes mais eficientes para fármacos lipofílicos, particularmente fármacos aromáticos, do que as soluções micelares de copolímeros em bloco preparados a partir de óxido de etileno e óxido de propileno (Rektas e col.; 2001, Crothers e col., 2005; Taboada e col., 2005). Copolímeros dibloco e tribloco do tipo S_nE_m e E_mS_nE_m foram sintetizados e caracterizados, investigando-se suas capacidades de solubilização frente ao fármaco aromático griseofulvina. Os resultados demonstraram que a extensão de solubilização é maior para os copolímeros do tipo E/S, quando comparada à dos copolímeros do tipo E/P e/B (Crothers e col., 2002, Yang e col., 2003, Crothers e col., 2005). Considerando a griseofulvina como fármaco aromático pouco solúvel em água, os valores da capacidade de solubilização (s_h), expressos em unidade de massa do hidrófobo na micela, seguem a tendência da ordem de hidrofobicidade das unidades da cadeia. A diferença entre os valores de s_h para núcleos de P, B e S estão na razão aproximada de 1:6:12:

$$P \ll B < S \sim G$$

Além do uso dos copolímeros em bloco como componentes estruturais de formulações micelares de fármacos, sistemas baseados nestes copolímeros exibem uma variedade de propriedades biológicas úteis. Estes materiais exibem excelentes

propriedades de biocompatibilidade em função de suas baixas toxicidades aos tecidos biológicos e membranas (Kabanov e col., 2002).

Uma abordagem relativamente recente está relacionada à utilização de misturas binárias com vistas a potencializar as propriedades de solubilização e geleificação dos copolímeros não-iônicos e aplicá-las na solubilização e liberação controlada de fármacos. Harrison e colaboradores (2005) recentemente examinaram as características de micelização e gelatinização para uma mistura F87/E₄₅B₁₄E₄₅ 50/50 %m/m; Liu, Nace e Chu (1999) investigaram a micelização e gelatinização de misturas de E₉₉P₆₉E₉₉ (comercialmente chamado de F127) com tribloco E₄₅B₁₄E₄₅, mas nenhum desses autores estudou a capacidade de solubilização (s_{cp}) dessas misturas.

É sabido que soluções concentradas de muitos copolímeros E_mP_nE_m têm propriedades de geleificação favoráveis à liberação controlada de fármacos, isto é, eles geleificam com aquecimento a partir de baixas temperaturas (geleificação a frio). O potencial desses sistemas foi observado há muitos anos por Schmolka (1972) em conexão com o uso de géis aquosos no tratamento de queimaduras. Porém as soluções micelares dos copolímeros E_mP_nE_m a temperatura ambiente têm baixa capacidade de solubilização (s_{cp}) para fármacos, em contraste com as soluções micelares E_mS_nE_m (Crothers e col., 2005). Como as soluções micelares dos copolímeros E_mS_nE_m não exibem gelatinização a frio (Yang e col., 2003), surgiu o interesse em combinar as propriedades de solubilização das soluções micelares dos copolímeros E_mS_nE_m com as propriedades de gelatinização das soluções micelares dos copolímeros E_mP_nE_m é promissor para aplicação farmacêutica.

A investigação da solubilização de fármacos em micelas copoliméricas não tem se limitado à esfera acadêmica. Muitas patentes têm sido concedidas nessa área, relativas à síntese de novos copolímeros e desenvolvimento de formulações micelares para fármacos pouco solúveis, bem como empresas têm realizado testes clínicos e disponibilizado no mercado tecnologias para melhorar a solubilidade e liberação desses fármacos.

Novos copolímeros triblocos constituídos de blocos de poli(óxido de etileno) e poliortoésteres foram sintetizados para solubilização de fármacos anticâncer e anti-inflamatórios e preparação de formulações micelares para administração por injeção subcutânea/intramuscular ou por implante (US Patent 2003/0152630-A1). Copolímeros formados por blocos hidrofóbicos de poliésteres e blocos hidrofílicos de polietilenoimina foram sintetizados para aplicação em solubilização de fármacos, genes

e proteínas (US Patent 2003/0009004-A1). Copolímeros de ácido D,L-láctico/ácido glicólico e D,L-láctico/ácido, bem como derivados de ácido poliláctico foram sintetizados, investigando-se suas propriedades de micelização e solubilização frente aos fármacos PTX e Cs A. As concentrações dos fármacos PTX e Cs A, em meio aquoso com pH controlado, aumentaram de 1 e 23 $\mu\text{g/mL}$ para até 25 e 22 mg/mL , respectivamente (WO 03/033593 A1). Formulações micelares de Ind foram desenvolvidas com copolímeros sintetizados a partir de polivinilpirrolodona (PVP) previamente funcionalizada e D,L-lactídeo por polimerização aniônica, obtendo-se eficiências de encapsulamento de até 45% (WO 02/00194 A2).

Dentre as empresas que possuem tecnologia patenteada na área de formulações micelares de fármacos está a SkyePharma (www.skyepharma.com). Sua principal tecnologia é chamada “Insoluble Drug Delivery” - IDD ® e é aplicável a uma ampla gama de compostos fármaco-terapêuticos, incluindo anestésicos e fármacos anti-câncer. A base da tecnologia ® IDD é a produção de um “core” muito pequeno ($<1\mu\text{m}$) do fármaco, o qual é então estabilizado com fosfolípidos; estes, por sua vez, podem ou não conter alguns modificadores de superfície. Outras tecnologias de solubilização, IDD-P ®, IDD-D ® e IDD-SE ®, desenvolvidas pela empresa são, essencialmente, modificações da tecnologia IDD ®. IDD-P ® é uma formulação que compreende um “core” sólido microparticulado estabilizado por fosfolípidos. A tecnologia IDD-D ® é baseada na habilidade de drogas hidrofóbicas para se dissolverem em substâncias lipofílicas, como, por exemplo, óleos, e, portanto, o “core” é líquido. A tecnologia IDD-SE® é uma classe especial de IDD ® resultante, principalmente, de mudanças no processo de fabricação. É um sistema de emulsificação pelo qual se obtém o fármaco micronizado ou as suas gotas, quando a formulação é exposta a um meio aquoso, como, por exemplo, o trato gastrointestinal. As diferentes formulações são produzidas através da aplicação de técnicas de processamento, tais como, a mistura em alto cisalhamento, na presença dos fosfolípidos que se associarão à superfície do “core” recém-formado. A principal vantagem desta tecnologia é que formulações com estreita distribuição de tamanho de partículas são produzidas, sendo aplicáveis a uma ampla variedade de rotas de liberação, usando excipientes biocompatíveis aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA). Outras vantagens incluem o aumento da biodisponibilidade devido ao aumento da solubilidade do fármaco, e a possibilidade de criação de formulações de liberação controlada com toxicidade reduzida. A SkyePharma tem

atualmente seis produtos aprovados e comercializados, incluindo formulações para doença de Parkinson, asma, artrite reumatóide e angina.

Outras empresas como, por exemplo, a japonesa Nippon Kayaku Co. possui produtos em testes clínicos de fase II e I, envolvendo os fármacos Dox e PTX. Matsumura e colaboradores (2001) determinaram a dosagem máxima tolerada, a toxicidade e o perfil farmacocinético para o sistema micelar com Dox e PEO-b-poli(ácido aspártico). Hamaguchi e colaboradores (2005) avaliaram a formulação micelar de PTX e PEO-b-poli(4-fenil-1-butanoato)L-aspartamida em relação a citotoxicidade *in vitro*, atividade antitumoral *in vivo*, farmacocinética, farmacodinâmica e neurotoxicidade. A formulação micelar mostrou atividade antitumoral muito potente contra câncer cólon-retal, em virtude da maior acumulado agente no tumor, seguida de liberação pelo seu eficaz e controlada do sistema micelar. A neurotoxicidade foi significativamente diminuída, quando comparada com PTX livre. A canadense Supratek Pharma Inc. possui produto em testes clínicos de fase I, envolvendo um novo agente anti-câncer contendo Dox e dois copolímeros em bloco do tipo Pluronic®. Danson e colaboradores (2004) determinaram o perfil de toxicidade, a dose máxima tolerada e o perfil farmacocinético do sistema micelar e documentaram a atividade antitumoral. O perfil farmacocinético do sistema micelar mostrou uma depuração mais lenta do que foi relatado para a doxorubicina convencional e evidências de atividade antitumoral foram observadas em pacientes com tumores sólidos avançados e resistentes. A também canadense Angiotech e a sul-coreana Samyang Corp. possuem produtos em testes clínicos de fase II, envolvendo PTX e o copolímero PEO-b-poli(D,L- Lactídeo), em formulações livres de Cremofor EL que permitem maiores dosagens do agente terapêutico sem toxicidade adicional (Kim e col. 2004).

1.3. FÁRMACOS

O fármaco griseofulvina (Figura 9) pode ser utilizado nos experimentos de solubilização, pois possui uma pequena solubilidade em água e é um padrão apropriado para testar solubilização em formulações micelares (Rekatas e col., 2001; Ricardo, Crothers e Booth, 2002; Wiedmann, Bhatia e Wattenberg, 2000). A griseofulvina possui atividade antifúngica, sendo indicada nas infecções da pele, do couro cabeludo e das unhas causadas por *Dermatophytes* ou *Sporprytrichum* resistentes à terapêutica convencional. Pode ser isolada do *Penicillium griseofulvum dierckx* ou obtida por síntese. A griseofulvina é um antibiótico não poliénico que age causando a destruição

do fuso mitótico de microorganismos susceptíveis, ao interagir com seus microtúbulos polimerizados (Manual on line da Virbac).

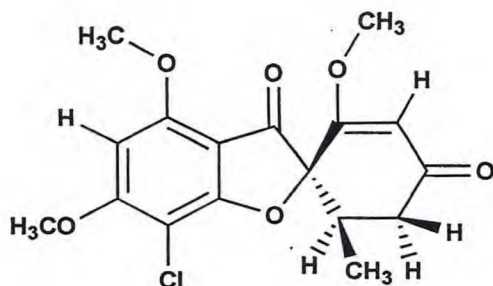


Figura 9. Estrutura química do fármaco griseofulvina.

Muitos fármacos anticancerígenos são compostos naturais ou têm sido desenvolvidos a partir de compostos similares aos que ocorrem na natureza (Goniotaki e col., 2004). Os flavonóides são pertencentes a um grande grupo de fitoquímicos ou fitonutrientes, que são polifenóis de baixa massa molecular, encontrados em diversas plantas e que apresentam ação anti-inflamatória, anti-alérgica e anticâncer. São encontrados em várias frutas e vegetais em geral, assim como em alimentos processados como chá e vinho (Middleton e col., 2000). São compostos naturais heterocíclicos amplamente distribuídos em plantas como glicosídeos ou não-glicosídicos (Goniotaki e col., 2004). Eles são subdivididos, de acordo com a origem biossintética, em (a) Flavonas, Flavonóis e seus *O*-heterosídeos; (b) *C*-heterosídeos; (c) Antocianos; (d) Chalconas; (e) Auroras; (f) Di-hidro-flavonóis, (g) Flavanas, Leucoantocianidinas e Proantocianidinas; (h) Isoflavonóides; (i) Neoflavonóides, (j) Biflavonóides (Zuanazzi e Montanha, 2004). As classes (a) e (g) são descritas conjuntamente em função de apresentarem origens biossintéticas muito próximas. A Tabela 2 mostra cada classe com uma estrutura e nome correspondente.

A substituição e o nível de oxidação do anel pirano, C (Tabela 2, nº 1), caracteriza o tipo de classe:

- Flavonas: possuem um grupo carbonila na posição 4, uma ligação dupla entre as posições 2 e 3 e não apresentam hidroxila na posição 3;

- Flavonóis: possuem um grupo carbonila na posição 4, uma ligação dupla entre as posições 2 e 3 e uma hidroxila na posição 3;

- *O*-heterosídeos: são açúcares ligados através do carbono C-1 (anomérico) ao oxigênio presente no flavonóide;

- *C*-heterosídeos: são açúcares ligados pelo seu carbono C-1 (anomérico) e um ou dois carbonos do anel A do flavonóide;

- Antocianos: possuem um grupo hidroxila na posição 3 e duas ligações duplas, uma entre o átomo de oxigênio e o carbono 2 e outra entre os carbonos 3 e 4;

- Chalconas: possuem como núcleo fundamental o 1,3-diarilpropano, modificado pela presença de uma ligação olefínica, de um grupo cetona e/ou hidroxila. Nessa classe a numeração dos anéis A e B é trocada. O anel A recebe números ordinários seguidos de linha (') e o anel B apenas número ordinário.

- Auronas: são derivadas da 2-benzilidenocumaranona. Apresenta isomeria geométrica devido a presença de uma ligação olefínica entre os anéis B e C. A forma *Z*-aurora é a mais comum.

- Di-hidro-flavonóis: são compostos que possuem uma ligação simples entre os carbonos 2 e 3 (□ e □ para as di-hidrochalconas) no anel pirano (C). Pertecem a essa classe as flavanonas (ou di-hidroflavonas), di-hidroflavonóis (ou flavanóis ou 3-hidróxi-flavanonas) e as di-hidrochalconas.

- Flavanas, Leucoantocianidinas e Proantocianidinas: estão numa classe junto com os biflavonóides e isoflavonóides, nos quais é possível encontrar estruturas oligomerizadas;

- Isoflavonóides: possuem um grupo carbonila na posição 4 e o anel B encontra-se ligado ao restante da molécula através do carbono 3. Podem ainda possuir uma ligação dupla entre os carbonos 2 e 3;

- Neoflavonóides: contém 15 átomos de carbono, que são associados estruturalmente e biogeneticamente aos flavonóides e isoflavonóides.

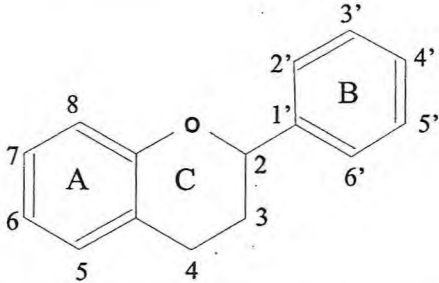
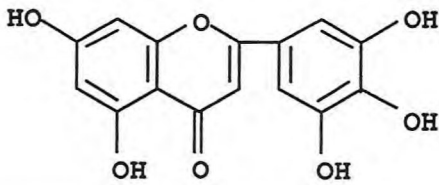
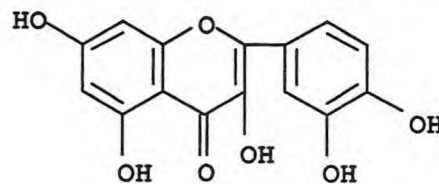
- Biflavonóides: constituem uma classe de flavonóides diméricos, diferenciando-se de outros oligômeros como as protoantocianidinas. Ocorrem principalmente como dímeros das flavonas e flavanonas, raramente chalconas.

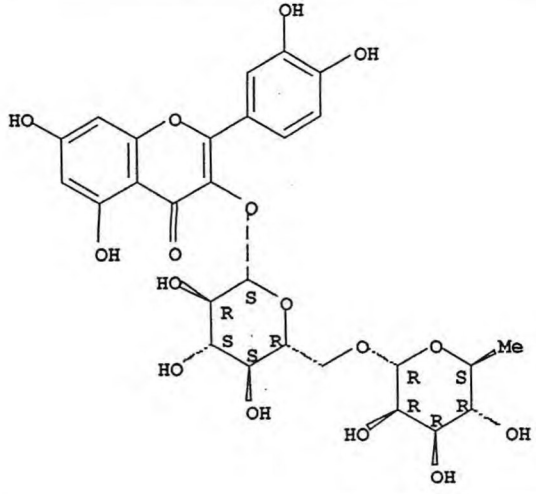
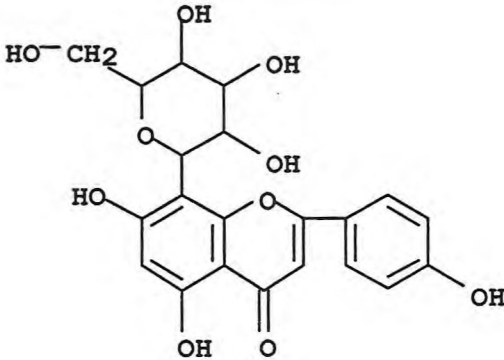
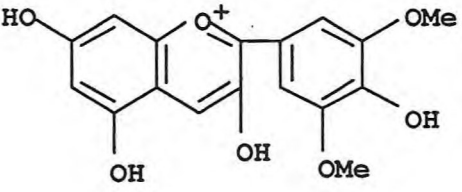
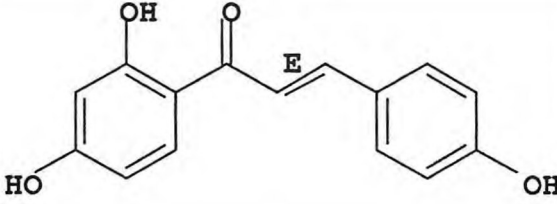
Os flavonóides exibem uma variedade de atividades biológicas como, por exemplo, atividade antiinflamatória, bactericida, fungicida, antiviral, antiulcerativa,

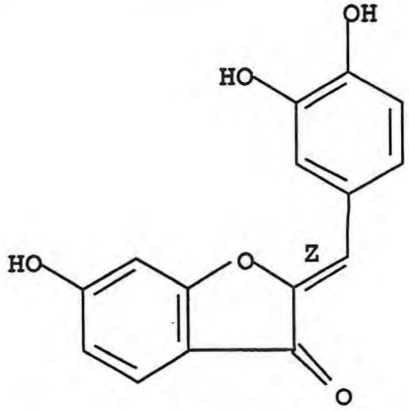
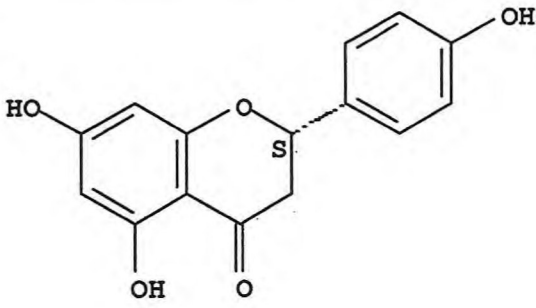
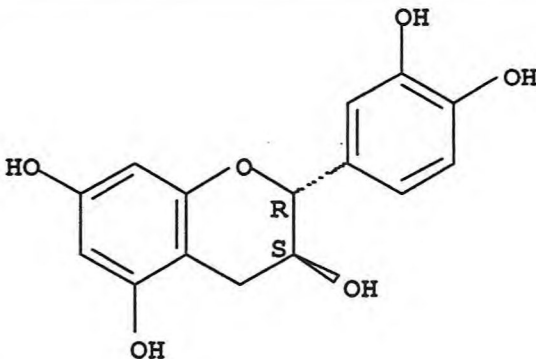
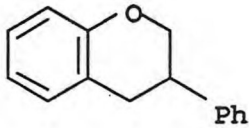
hepatoprotetiva, antitumoral (Narajana e col., 2001). Muitas destas atividades são consequência da habilidade dos flavonóides em formar radicais livres estáveis que inibem enzimas e interagem com biomembranas (Saija e col., 1995 a,b).

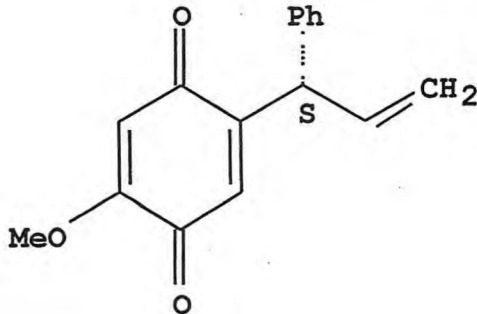
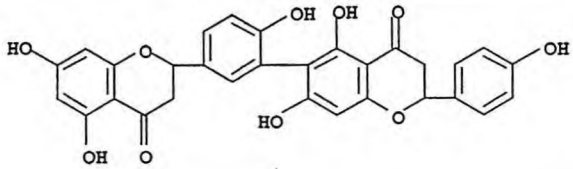
O interesse nos flavonóides é crescente também por causa de suas atividades antioxidantes e suas habilidades de prevenir doenças cardíacas (Gordon e Roedig-Penman 1998). Muitas propriedades biológicas dos flavonóides podem ser relatadas pela sua capacidade de penetrar nas membranas celulares e afetar as atividades biológicas (Demetzos e col., 2001). Muitos flavonóides são compostos insolúveis em água com baixa razão de dissolução, o que se constitui em grande desvantagem para administração *in vivo*.

Tabela 2. Classe, estrutura e nome de alguns flavonóides.

Nº	Classe	Estrutura	Nome
1.	Flavonóides		Estrutura básica
2.	Flavonas		Tricetina $C_{15}H_{10}O_7$
3.	Flavonóis		Quercetina $C_{15}H_{10}O_7$

4.	O-heterosídeos		<p>Rutina</p> <p>$C_{27}H_{30}O_{16}$</p>
5.	C-heterosídeos		<p>Vitexina</p> <p>$C_{21}H_{20}O_{10}$</p>
6.	Antocianos	 <p style="text-align: center;">· Cl⁻</p>	<p>Malvidina</p> <p>$C_{17}H_{15}O_7 \cdot Cl$</p>
7.	Chalconas		<p>Isoliquiritigenina</p> <p>$C_{15}H_{12}O_4$</p>

8.	Auroras		Sulfuretina $C_{15}H_{10}O_5$
9.	Di-hidro-flavonóis		Naringenina $C_{15}H_{12}O_5$
10.	Flavanas, Leucoantocianidinas e Proantocianidinas		(+)-Catequina $C_{15}H_{14}O_6$
11.	Isoflavonóides		Isoflavona $C_{15}H_{14}O$
12.	Neoflavonóides		3-Metoxidal-bergiona $C_{16}H_{14}O_3$

			
13.	Dihidroflavonas		Robustaflavona $C_{30}H_{22}O_{10}$

Quercetina, que pertence aos flavonóis, é reportada como um composto antineoplásico, exercendo alta atividade inibitória contra várias células cancerígenas humanas *in vitro* e exibindo um efeito atóxico sinérgico com cisplatina contra células leucêmicas resistentes a fármaco *in vitro* (Middleton e col., 2000). Catequina (Tabela 2, nº 10) e quercetina (Tabela 2, nº 3), são uns dos principais polifenóis em vinho tinto, mostraram inibição do crescimento de células cancerígenas na mama humana (Damianaki e col., 2000).

Quercetina (3, 3', 4', 5, 7 – pentahidroxi-flavonol –Tabela 2, nº 3) é um dos mais abundantes flavonóides presentes nos vegetais. Nas plantas, ocorre principalmente nas folhas e em outras partes como não-glicosídeos ou glicosídeos, nestes, um ou mais grupos de açúcares estão ligados aos grupos fenólicos por ligações glicosídicas. Glicose é o açúcar mais comum, galactose e ramnose também são freqüentemente encontrados na composição dos flavonóides (Wach, Pyrzyńska e Biesaza, 2007).

A rutina (3',4',5,7-tetrahidroxi-3-O-(6-O-□-L-raminose-□-D-glicose-flavonol - Tabela 2, nº 4) é individualmente o mais comum de todos os glicosídeos da quercetina (Harborne, 1976). A rutina consiste da estrutura básica da quercetina com um O-ramoglicosídeo (glicose e ramnose) na posição 3. Experiências em animais comprovam a ação da rutina sobre a permeabilidade dos vasos capilares, pela inibição da formação de edemas e de hemorragias induzidas. Em concordância com os resultados obtidos em animais, em humanos também foi comprovado o efeito profilático e curativo da rutina nas patologias acompanhadas de fragilidade dos vasos capilares e aumento da permeabilidade da membrana celular em humanos (Merck, 1970).

1.4. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Cerca de um terço dos fármacos em desenvolvimento são insolúveis em água e metade deles não são aprovados em testes clínicos em função do baixo desempenho farmacocinético (Patravale e col., 2004).

Vários sistemas coloidais, dentre eles as micelas de copolímeros em bloco, têm sido estudadas como sistemas de liberação controlada de fármacos. Estes sistemas nanoestruturados têm se mostrado úteis na otimização terapêutica destes fármacos, aumentando a sua solubilidade, prevenindo a sua rápida eliminação do corpo, reduzindo a toxicidade e retardando a sua degradação (Savic', Eisenberg, e Maysinger, 2006).

Copolímeros em bloco do tipo $E_m P_n E_m$, onde E denota uma unidade repetitiva de óxido de etileno $[-OCH_2CH_2]$ e P denota uma unidade repetitiva de óxido de propileno $[-OCH_2CH(CH_3)]$, têm sido extensivamente usados em estudos de solubilização de fármacos (Allen e col., 1999; Kabanov e col., 2002; Oh e col., 2004).

Trabalhos recentes mostraram que as micelas de copolímeros em bloco sintetizados com blocos hidrofóbicos de óxido de estireno, com os comprimentos destes blocos variando de 8 a 15 unidades repetitivas, são solubilizantes mais eficientes para fármacos lipofílicos do que as soluções micelares de copolímeros em bloco do tipo $E_m P_n E_m$ (Rekatas e col., 2001, Crothers e col., 2005 e Taboada e col., 2005).

Tendo em vista o que foi exposto acima e, assumindo que a solubilidade é um fator essencial para a biodisponibilidade e eficácia do fármaco (Patravale e col., 2004), este trabalho tem como objetivos:

- (i) Sintetizar uma série de copolímeros em bloco do tipo $E_m S_n E_m$, onde S denota uma unidade repetitiva de óxido de estireno $[-OCH_2CH(C_6H_5)]$, com as seguintes estruturas esperadas $E_{65}S_5E_{65}$, $E_{65}S_7E_{65}$, $E_{65}S_9E_{65}$, $E_{65}S_{19}E_{65}$ e $E_{102}S_9E_{102}$, para expandir a série anteriormente relatada;
- (ii) Sintetizar copolímeros em bloco do tipo $E_m S_n$ e $S_n E_m S_n$ com as estruturas esperadas $E_{40}S_5$ e $S_5 E_{90} S_5$, respectivamente;

- (iii) Caracterizar os copolímeros em bloco do tipo $E_mS_nE_m$, E_mS_n e $S_nE_mE_n$ por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Espalhamento de Luz e Reologia;

- (iv) Realizar estudos de solubilização dos copolímeros em bloco do tipo $E_mS_nE_m$ frente aos fármacos pouco solúveis em água griseofulvina, rutina e quercetina.

2. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO POLI (ÓXIDO DE ETILENO -*BLOC*- ÓXIDO DE ESTIRENO)

2.1 SÍNTESE DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO POLI(ÓXIDO DE ETILENO -*BLOC*- ÓXIDO DE ESTIRENO)

2.1.1. REAGENTES E MATERIAIS

Óxido de Etileno (E)

O óxido de etileno (99,8%, Fluka) foi transferido sob vácuo de seu cilindro para um balão de fundo redondo contendo CaH_2 pulverizado (Fischer Scientific), permitindo-se 8 horas de agitação, em uma mistura de gelo seco e acetona. Este procedimento foi repetido mais uma vez, armazenando-se o óxido de etileno em freezer, em uma mistura de gelo seco e acetona, antes do uso.

Óxido de Estireno (S)

O óxido de estireno (99,5%, Fluka) foi purificado através de destilação sob pressão reduzida em atmosfera de nitrogênio e armazenado em peneira molecular de 4 Å (BDH Ltda.).

Hidreto de sódio

Hidreto de sódio (NaH 60%, Aldrich Chemical) foi armazenado em um recipiente lacrado, hermético e utilizado sem posterior purificação.

Polietileno Glicol 2000 – PEG 2000

Polietileno Glicol 2000 Monometil Éter (99,6%, Fluka) foi armazenado em um recipiente lacrado, hermético e utilizado sem posterior purificação. A pureza da amostra foi conferida através de análises de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C) e de Cromatografia de Permeação em Gel (GPC).

Polietileno Glicol 4000 – PEG 4000

Polietileno Glicol 4000 (99,6%, Fluka) foi armazenado em um recipiente lacrado, hermético e utilizado sem posterior purificação. A pureza da amostra foi conferida através de análises de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C) e de Cromatografia de Permeação em Gel (GPC).

1, 2-Butanediol

1, 2-Butanediol (Aldrich Chemical) foi purificado através de destilação sob pressão reduzida em atmosfera de nitrogênio e mantido em peneira molecular de 4 Å até a sua utilização.

Potássio metálico

Potássio metálico (BDH Ltd) foi armazenado sob óleo de parafina e cortado imediatamente antes do uso.

Peneira Molecular

Peneira Molecular 4 Å (Aldrich Chemical) foi seca a 300 °C por 3 horas e, então, armazenada em estufa a 100 °C, por uma noite, antes da sua utilização.

2.1.2 SÍNTESE DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO $E_mS_nE_m$

Uma série de copolímeros em bloco do tipo $E_mS_nE_m$ (onde as subscrições n e m denotam número médio do comprimento dos blocos) foi sintetizada por copolimerização aniônica, usando a técnica de ampolas e alto vácuo. A linha de vácuo, mostrada na Figura 10, consiste de um tubo de vidro Pyrex com várias saídas (“manifold”), uma bomba mecânica, uma bomba de difusão, um medidor de vácuo (Edwards High Vacuum Ltd., England), um manômetro de mercúrio e torneiras de politetrafluoroetileno-PTFE (J. Young Ltda.). Toda a vidraria usada na síntese foi mantida em estufa antes da utilização. A linha de vácuo ($\sim 10^{-4}$ mm Hg) foi rigorosamente limpa com acetona e todas as juntas foram seladas com graxa de silicone de alta-pressão.

A solução de iniciador foi preparada pela dissolução de potássio metálico em 1,2-butanediol, a uma razão molar $[OH]/[K]$ de aproximadamente 10, sob atmosfera de nitrogênio, em balão volumétrico. Fez-se vácuo nas ampolas por 3 horas e, a seguir, elas foram purgadas com nitrogênio seco antes da adição da solução de iniciador. A solução de iniciador foi então transferida através de seringa para as ampolas de reação previamente pesadas. Uma quantidade calculada do monômero óxido de estireno recentemente destilado foi adicionada a cada ampola de reação contendo a solução de iniciador. As ampolas foram congeladas com nitrogênio

líquido, fazendo-se vácuo; após atingirem a temperatura ambiente, as ampolas foram pesadas para determinar a quantidade de monômero adicionada.

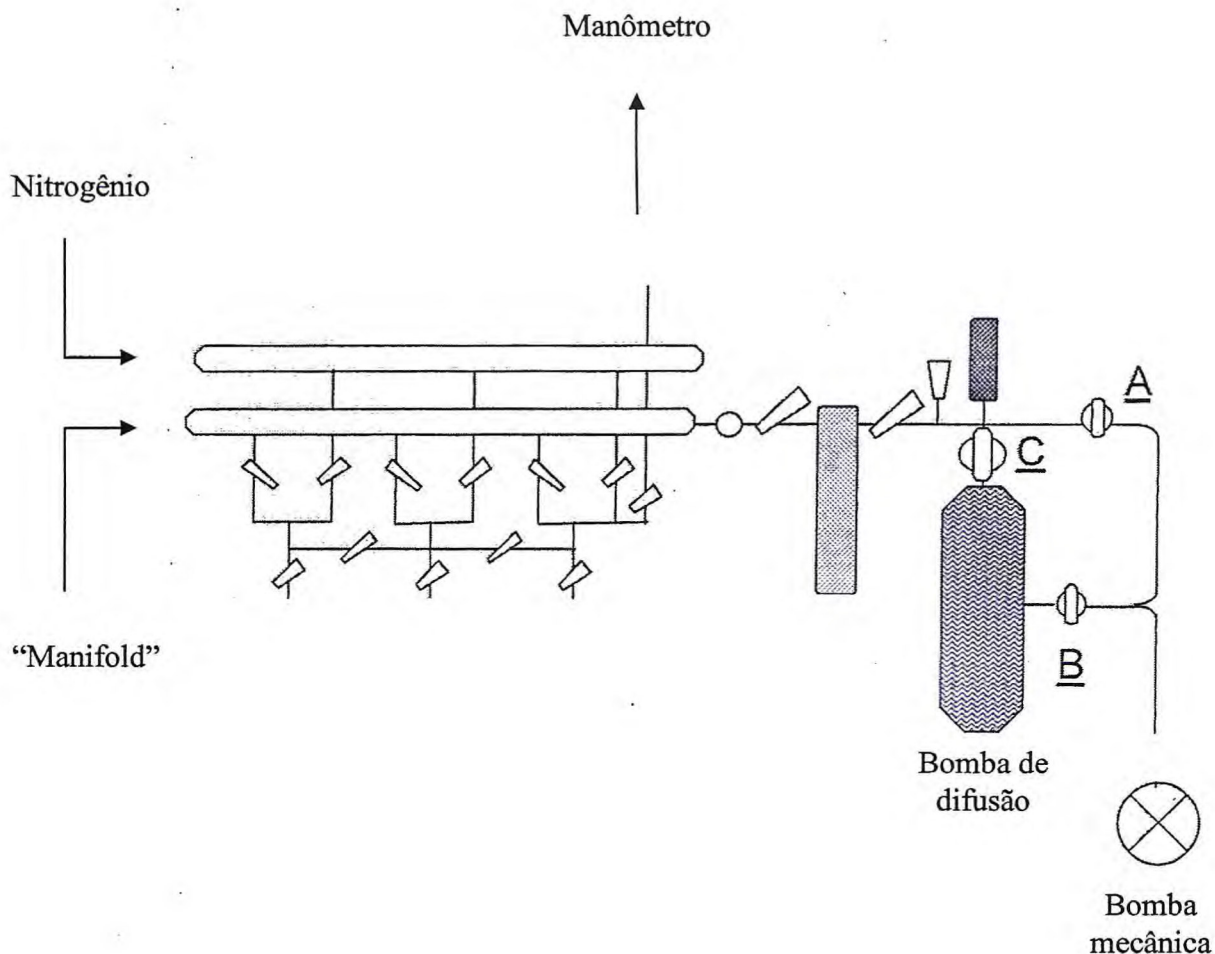


Figura 10. Representação esquemática da linha de alto vácuo utilizada na síntese dos copolímeros.

As ampolas, contendo uma barra magnética, permaneceram sob agitação por uma noite em temperatura ambiente e, em seguida, foram colocadas em banho de silicone a 65 °C por 7 dias e a 85 °C por 40 dias. Assumiu-se o fim da reação, quando, ao segurar uma pérola de CO₂ sólido contra a ampola, observou-se a ausência de condensação do monômero.

O monômero óxido de etileno foi transferido do balão de fundo redondo através da linha de vácuo para uma ampola graduada e a quantidade calculada foi transferida às ampolas de reação. As ampolas de foram congeladas em nitrogênio líquido, fazendo-se vácuo durante 10 minutos; em seguida, foram seladas com as torneiras de PTFE e removidas da linha de vácuo. Quando a temperatura ambiente foi atingida, as ampolas

foram pesadas para determinar a quantidade exata de monômero transferido. Uma vez que a quantidade correta foi transferida, as ampolas foram colocadas sob agitação por uma noite, e a seguir, em um banho de silicone a 45 °C por 3 a 4 dias e então a 65 °C, até que a reação estivesse completa (10 dias). Novamente, CO₂ sólido foi usado para testar o fim da reação. Fez-se vácuo nas ampolas para remoção de qualquer traço de monômero residual (Booth e Atwood, 2000). As quantidades de monômeros e iniciador são mostradas na Tabela 2.

Tabela 3. Condições Preparativas para a síntese dos copolímeros E_mS_nE_m

Amostra	K metálico (g)	1,2- butanediol (g)	Monômero SO (g)	Monômero EO (g)	Estrutura esperada
S5	0,0125	0,2613	2,0302	17,9724	E ₆₅ S ₅ E ₆₅
S7	0,0117	0,2495	2,1147	17,3186	E ₆₅ S ₇ E ₆₅
S9	0,0118	0,2403	2,6784	16,6785	E ₆₅ S ₉ E ₆₅
S19	0,0095	0,2043	4,8215	14,1796	E ₆₅ S ₁₉ E ₆₅
E102	0,0069	0,1486	0,3826	17,9456	E ₁₀₂ S ₉ E ₁₀₂

2.1.3. SÍNTESE DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO E_mS_n e S_nE_mS_n

Dois copolímeros em bloco do tipo E_mS_n e S_nE_mS_n (onde as subscrições *n* e *m* denotam número médio dos comprimentos dos blocos) foram sintetizados a partir da polimerização do monômero óxido de estireno (SO) em cadeia ativada de polietileno glicol-PEG. Para o copolímero em bloco do tipo E_mS_n, uma quantidade pesada de PEG - 2000 foi colocada em uma ampola de reação com uma quantidade calculada do iniciador NaH. A ampola foi conectada à linha de vácuo, fazendo-se vácuo durante 5 dias para remoção de umidade. O monômero SO destilado foi adicionado à ampola de reação através de seringa. As ampolas foram congeladas com nitrogênio líquido, fazendo-se vácuo; após atingirem a temperatura ambiente, as ampolas foram pesadas para determinar a quantidade exata de monômero óxido de estireno adicionada. Uma vez que a quantidade correta foi transferida, as ampolas foram colocadas sob agitação por uma noite, e a seguir, em um banho de silicone a 80 °C por 30 dias. Novamente, CO₂ sólido foi usado para testar o fim da reação. Fez-se vácuo nas ampolas para remoção de qualquer traço de monômero residual. Para o copolímero em bloco do tipo

$S_nE_mS_n$, o mesmo procedimento foi realizado utilizando-se PEG – 4000. As quantidades de monômeros e iniciador são mostradas na Tabela 4.

Tabela 4. Condições preparativas para a síntese dos copolímeros E_mS_n e $S_nE_mS_n$

Amostra	NaH (g)	PEG - 2000 (g)	PEG - 4000 (g)	Monômero SO (g)	Estrutura esperada
E40	0,0468	23,05	-	9,44	$E_{40}S_5$
E90	0,0219	-	21,00	9,36	$S_5E_{90}S_5$

2.1.4. PURIFICAÇÃO

Os copolímeros em bloco foram purificados para remover qualquer traço de homopolímero presente na amostra. Cada copolímero foi adicionado a uma solução de hexano e diclorometano na razão 90:10 v/v. Cada mistura foi suavemente aquecida com agitação constante e mantida na faixa de temperatura de 50-60 °C durante aproximadamente 10 minutos. A mistura foi decantada, descartando-se o sobrenadante (Booth e Atwood, 2000). Este procedimento foi repetido 5 vezes para cada copolímero em bloco.

2.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS EM BLOCO POLI (ÓXIDO DE ETILENO -*BLOC*- ÓXIDO DE ESTIRENO)

2.2.1. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C (RMN DE ^{13}C)

2.2.1.1. EXPERIMENTAL

Os espectros de RMN de ^{13}C foram obtidos em temperatura ambiente através de um espectrômetro Varian Associates Unity 500, operando a 125,8 MHz. As amostras de copolímeros foram dissolvidas em clorofórmio deuterado, com concentração de aproximadamente 80 mg.cm⁻³, e foram colocadas em tubos com diâmetro de 10 mm. Para a obtenção de integrais precisas, utilizou-se um intervalo de pulso de 11 s, permitindo-se relaxação completa entre pulsos.

2.2.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espectros representativos de RMN de ^{13}C do homopolímero S e de copolímero do tipo ESE são mostrados nas Figuras 11 e 12. As atribuições dos picos de ressonância foram feitas de acordo com a literatura (Heatley e col., 1991), usando a mesma notação para especificar um carbono particular da cadeia polimérica. A notação usada é a seguinte:

- (i) E denota uma unidade de óxido de etileno e S^{\rightarrow} denota uma unidade de óxido de estireno, a seta indicando o sentido cauda \rightarrow cabeça $[(\text{CH}_2 \rightarrow \text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5))]$;
- (ii) E ou S sublinhados (E ou S) identificam a unidade de repetição na qual o carbono em questão fica situado;
- (iii) Os símbolos s e t são usados para distinguir entre o CH_2 e o CH da cadeia polimérica, respectivamente;
- (iv) Se uma unidade de E estiver situada dentro de uma seqüência assimétrica, as entidades CH_2 não serão idênticas e são designadas por a ou b, representando, respectivamente, o CH_2 à esquerda ou à direita respectivamente na seqüência como está escrito;
- (v) Uma hidroxila terminal é designada por um asterisco (*).

As Tabelas 5 e 6 mostram as atribuições dos picos e correspondentes deslocamentos químicos para o poli(óxido de estireno) e para os copolímeros, respectivamente.

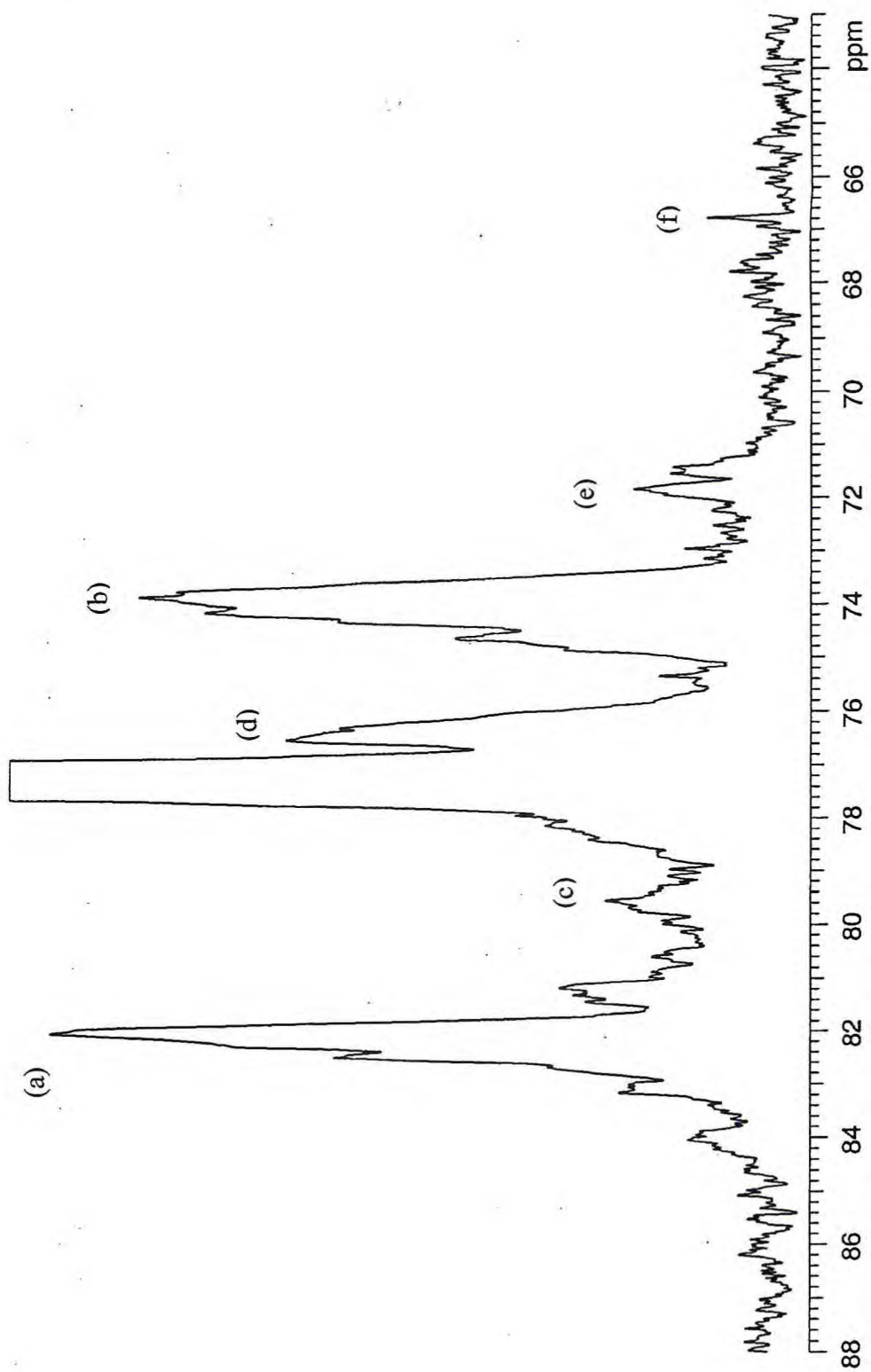


Figura 11. Espectro representativo de RMN^{13}C para o homopolímero poli(óxido de estireno).

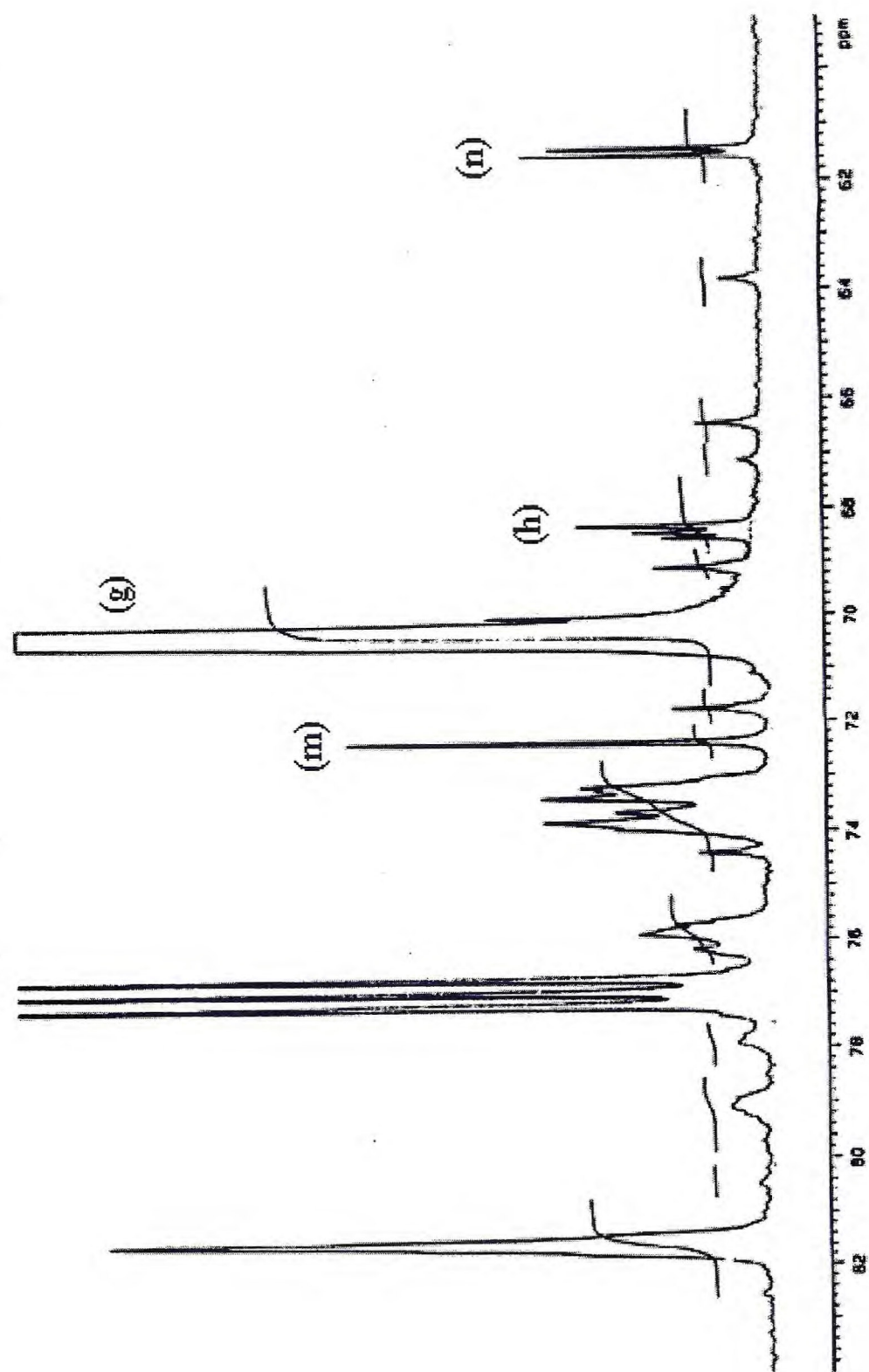


Figura 12. Espectro representativo de RMN ^{13}C para o copolímero ESE.

Tabela 5. Atribuições dos picos de RMN ^{13}C e deslocamentos químicos para o homopolímero poli(óxido de estireno).

Atribuições	Carbono	Deslocamento Químico / ppm
a	$t\text{-}\underline{S}\text{-}\underline{S}\text{-}\underline{S}$	81,8
b	$s\text{-}\underline{S}\text{-}\underline{S}$	73,7
c	$t\text{-}\underline{S}\text{-}\underline{S}$	78,0; 79,4
d	$s\text{-}\underline{S}\text{-}\underline{S}$	76,0
e	$t\text{-}\underline{S}$ *	71,5; 73,8
f	$s\text{-}\underline{S}$ *	67,8

Tabela 6. Atribuições dos picos de RMN ^{13}C e deslocamentos químicos para os copolímeros $E_mS_nE_m$.

Atribuições	Carbono	Deslocamento químico/ ppm
g	EEE	70,2
h	$a\text{-}\underline{S}\text{-}\underline{E}\underline{E}$	68,4
i	$b\text{-}\underline{S}\text{-}\underline{E}\underline{E}$	70,2
j	$b\text{-}\underline{E}\underline{S}$	70,5
k	$t\text{-}\underline{E}\underline{S}\text{-}\underline{E}$	81,6
l	$s\text{-}\underline{E}\underline{S}$	75,8; 73,5
o	$a\text{-}\underline{E}\underline{E}$ *	72,4
p	$b\text{-}\underline{E}\underline{E}$ *	61,4

O grau de polimerização do bloco de poli(óxido de estireno) foi calculado de acordo com Heatley e col. (1991) a partir da Equação 10:

$$\frac{\Sigma \text{ integral dos carbonos da cadeia do homopolímero } S}{\Sigma \text{ integral dos carbonos das unidades terminais } y} = \frac{xn}{y} \quad (\text{Eq. 10})$$

onde x é o número de átomos de carbono por unidade de repetição, y é o número de átomos de carbono por unidade terminal e n é o grau de polimerização. Considerando a

Tabela 7, o grau de polimerização ou o número médio do comprimento do bloco, n , pode ser calculado por:

$$\frac{I(a+b+c+d+e+f)}{I(2e+f)} = \frac{2n}{2} \quad (\text{Eq. 11})$$

A Tabela 7 apresenta os valores das integrais dos carbonos da cadeia do homopolímero S e dos carbonos das unidades terminais e a Tabela 8, os números médios dos comprimentos dos blocos S dos copolímeros $E_mS_nE_m$, calculados a partir da Equação 11.

Tabela 7. Somatório das integrais dos carbonos da cadeia poli(óxido de estireno) e dos carbonos das unidades terminais a partir de RMN ^{13}C .

Amostra	I(a + b + c + d + e + f)	I(2e + f)
S5	19,18	3,69
S7	20,46	3,10
S9	32,38	3,52
S19	66,33	3,35
E102	32,24	3,43

Tabela 8. Números médios dos comprimentos dos blocos de óxido de estireno dos copolímeros $E_mS_nE_m$ a partir de RMN ^{13}C .

Amostra	$n_{\text{experimental}}$	$n_{\text{teórico}}$
S5	5,1	5
S7	6,6	7
S9	9,2	9
S19	19,8	19
E102	9,3	9

O grau de polimerização do bloco de óxido de estireno para todos os copolímeros é ± 1 unidade do comprimento de cadeia esperado (Tabela 8), o que também está de acordo com as condições preparativas.

O grau de polimerização para os blocos de óxido de etileno foi calculado de acordo com Heatley e col. (1991) a partir da Equação 12:

$$\frac{\Sigma \text{ integral dos carbonos da cadeia E}}{\Sigma \text{ integral dos carbonos da cadeia S}} = \frac{x}{1-x} \quad (\text{Eq. 12})$$

onde x é a fração de molar de óxido de etileno na amostra de copolímero e 1-x é a fração de molar de óxido de estireno na amostra. Considerando as Tabelas 7 e 8, a razão denotada pela Equação 12 pode ser determinada por:

$$\frac{I(g+h+i+j+m+n)}{I(a+b+c+d+e+f)} = \frac{x}{1-x} \quad (\text{Eq. 13})$$

A fração molar de óxido de etileno x pode ser expressa alternativamente em termos do número médio do comprimento da cadeia de E, m, de acordo com Equação 14:

$$\frac{m}{m+n} = x \quad (\text{Eq. 14})$$

onde m e n são os números médios dos comprimentos das cadeias de óxido de etileno e óxido de estireno, respectivamente. A Tabela 9 apresenta os valores das integrais dos carbonos da cadeia do homopolímero S, os valores das integrais dos carbonos das cadeias dos blocos de óxido de etileno e a Tabela 10, os números médios dos comprimentos dos blocos E dos copolímeros ESE, calculados a partir das Equações 13 e 14.

Tabela 9. Somatório das integrais dos carbonos dos blocos de óxido de estireno e dos carbonos dos blocos de óxido de etileno dos copolímeros $E_mS_nE_m$ a partir de RMN ^{13}C .

Amostra	$I(g+h+i+j+m+n)$	$I(a+b+c+d+e+f)$
S5	365,18	10,90
S7	398,09	21,55
S9	341,94	21,48
S19	77,06	6,35
E102	396,95	15,80

Tabela 10. Números médios dos comprimentos dos blocos de óxido de etileno dos copolímeros $E_mS_nE_m$ a partir de RMN ^{13}C .

Amostra	$m_{\text{experimental}}$	$m_{\text{teórico}}$
S5	70,5	65
S7	60,8	65
S9	70,5	65
S19	70,7	65
E102	101,8	102

Os reagentes PEG-2000 e PEG-4000 utilizados na síntese dos copolímeros E_mS_n e $S_nE_mS_n$ são disponíveis comercialmente. Suas massas molares numéricas médias foram checadas através de RMN de ^{13}C e a sua polidispersidade conferida através de GPC. O espectro de RMN de ^{13}C forneceu os seguintes valores para o número médio do comprimento do bloco de óxido de etileno: 43,0 para PEG-2000 e 90,8 para PEG-4000. A polidispersidade das amostras foi menor do que 1,1, o que está em bom acordo com as especificações do fabricante. O grau de polimerização para o bloco de óxido de estireno foi obtido de acordo com Heatley e col. (1991) a partir da Equação 15:

$$\frac{\Sigma \text{ integral dos carbonos da cadeia S}}{\Sigma \text{ integral dos carbonos da cadeia E}} = \frac{y}{1-y} \quad (\text{Eq. 15})$$

onde y é a fração molar de óxido de estireno na amostra de copolímero e $1-y$ é a fração molar de óxido de etileno na amostra. Considerando as Tabelas 7 e 9, a razão denotada pela Equação 15 pode ser calculada através da Equação 16:

$$\frac{I(a+b+c+d+e+f)}{I(g+h+i+j+m+n)} = \frac{y}{1-y} \quad (\text{Eq. 16})$$

A fração molar de óxido de estireno, y , pode ser expressa alternativamente em termos do número médio do comprimento da cadeia, n , de acordo com a Equação 17:

$$\frac{n}{n+m} = y \quad (\text{Eq. 17})$$

onde n e m são os números médios dos comprimentos das cadeias de óxido de estireno e óxido de etileno, respectivamente. A Tabela 11 apresenta os valores dos somatórios das integrais dos carbonos dos blocos de óxido de estireno e óxido de etileno e a Tabela 12, os números médios dos comprimentos dos blocos copolímeros E_mS_n e $S_nE_mS_n$, calculados a partir das Equações 19 e 20.

Tabela 11. Somatório das integrais dos carbonos blocos de óxido de estireno e dos carbonos dos blocos de óxido de etileno dos copolímeros $S_nE_mS_n$ e E_mS_n a partir de RMN ^{13}C .

Amostra	$I(a + b + c + d + e + f)$	$I(g + h + i + j + m + n)$
E40	28,25	184,23
E90	42,00	273,59

Tabela 12. Números médios dos comprimentos dos blocos de óxido de etileno e óxido de estireno dos copolímeros $S_nE_mS_n$ e E_mS_n a partir de RMN ^{13}C .

Amostra	$m_{\text{experimental}}$	$m_{\text{teórico}}$	$n_{\text{experimental}}$	$n_{\text{teórico}}$
E40	43,0	40	5,8	5
E90	90,8	90	6,9	5

Observa-se a partir da Tabela 12, que o grau de polimerização variou de ± 3 e ± 1 unidades de comprimento esperado para as cadeias de poli(óxido de etileno) e poli(óxido de estireno) para o copolímero E_mS_n , respectivamente. Para o copolímero $S_nE_mS_n$, entretanto, o grau de polimerização obtido foi de ± 1 e ± 2 unidades de comprimento esperado para as cadeias de poli(óxido de etileno) e poli(óxido de estireno) esperada para o copolímero E_mS_n , respectivamente.

2.2.2. CARACTERIZAÇÃO POR CROMATOGRAFIA POR PERMEACÃO EM GEL (GPC)

Cromatografia por Permeação em Gel ou Cromatografia por Exclusão de Tamanho é uma técnica utilizada para determinação da distribuição de massa molar de um polímero. Esta técnica de análise consiste em passar uma solução do polímero (amostra) através de uma coluna empacotada com um gel altamente reticulado contendo

poros de diferentes tamanhos. À medida que a amostra flui através da coluna, as moléculas do polímero são retidas nos poros e fracionadas de acordo com o seu volume molecular. As moléculas maiores são excluídas dos poros menores e, portanto, fluirão somente através dos volumes intersticiais, eluindo da coluna primeiro. As moléculas menores são retidas por períodos maiores de tempo, em virtude da facilidade com que difundem através dos poros, eluindo mais tarde da coluna.

A extensão em que as moléculas do polímero podem penetrar nos poros da coluna é definida por uma expressão de equilíbrio:

$$K_e = \frac{c_i}{c_o} \quad (\text{Eq. 18})$$

onde K_e é o coeficiente de distribuição e c_i e c_o são as concentrações das moléculas do polímero dentro e fora dos poros, respectivamente. A energia livre de permeação é definida pela equação:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln(K_e) \quad (\text{Eq. 19})$$

Portanto, o volume de eluição das moléculas do polímero é definido como:

$$V_e = V_o + K_e V_i \quad (\text{Eq. 20})$$

Onde V_e é o volume de eluição e V_i e V_o são os volumes dentro e fora dos poros, respectivamente. Se as moléculas de polímero são grandes, $K_e \rightarrow 0$, e o volume de eluição é equivalente ao volume fora dos poros ($V_e = V_o$). Se as moléculas de polímero são pequenas, $K_e \rightarrow 1$, e o volume de eluição é equivalente à soma dos volumes dentro e fora dos poros ($V_e = V_o + V_i$).

Cromatografia por Permeação em Gel, entretanto, não é uma técnica absoluta para determinação de massa molar, mas baseia-se em calibração. O coeficiente de distribuição, K_e , é determinado pelo tamanho das moléculas do polímero ou por seu volume hidrodinâmico, $K_e \propto \log(V_h)$. Portanto, o volume de eluição é também proporcional ao $\log(V_h)$, o que permite a construção de curvas de calibração de tamanho molecular versus volume de eluição.

2.2.2.1. EXPERIMENTAL

O sistema de GPC usado neste trabalho (modelo:Viscotek GPC max Ve 2001 GPC solvent/sample module) consiste em 3 colunas PL2MB500A, cada uma com 30 cm de comprimento e com diâmetro interno de 75 mm e empacotadas com géis de tamanhos de poro nominais de 104, 105, 106 Å. As colunas foram eluídas com tetrahidrofurano (THF) em temperatura ambiente a um fluxo de 1 cm³/min. As análises das amostras também foram realizadas em temperatura ambiente. Às soluções de copolímeros em THF, com concentração de 2 mg/dm³, foi adicionada uma gota de dodecano como um marcador interno (Booth e Atwood, 2000). As amostras foram injetadas por um sistema automático e o eluente, detectado por um refratômetro modelo Viscotek4 VE3580 RI. A calibração foi feita com uma série de padrões de poli(óxido de etileno) de massas molares conhecidas para se obter uma estimativa da distribuição de massa molar através da razão entre massa molar mássica média e massa molar numérica média (M_w/M_n).

2.2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma curva representativa de GPC obtida para os copolímeros sintetizados é mostrada na Figura 13. O primeiro pico é referente ao copolímero e o segundo, ao marcador dodecano. Os valores das polidispersidades, M_w/M_n , ficaram na faixa de 1.05 - 1.19. Estes resultados sugerem que não ocorreu degradação durante o curso da preparação. As polidispersidades (M_w/M_n), os valores das massas molares numéricas médias (M_n), das massas molares médias (M_w) e o percentual em massa de bloco hidrofóbico (% S) obtidos a partir dos resultados de GPC e RMN são listados para os copolímeros na Tabela 13.

Tabela 13. Caracterização dos copolímeros em bloco $E_mS_nE_m$, E_mS_n e $S_nE_mE_m$.

Amostra	Fórmula	M_n g/mol (GPC)	M_w g/mol (GPC)	M_w/M_n (GPC)	M_n g/mol (RMN)	% S (RMN)
S5	$E_{71}S_5E_{71}$	6936	7699	1,11	6866	8,7
S7	$E_{61}S_7E_{61}$	6024	7724	1,11	6215	12,0
S9	$E_{70}S_9E_{70}$	7099	7667	1,08	7248	14,9
S19	$E_{71}S_{19}E_{71}$	8861	10278	1,16	8538	26,7
E102	$E_{102}S_9E_{102}$	9938	11230	1,13	10067	10,7
E40	$E_{43}S_6$	2492	2617	1,05	2494	24,1
E90	$S_7E_{91}S_7$	5420	6450	1,19	5646	21,2

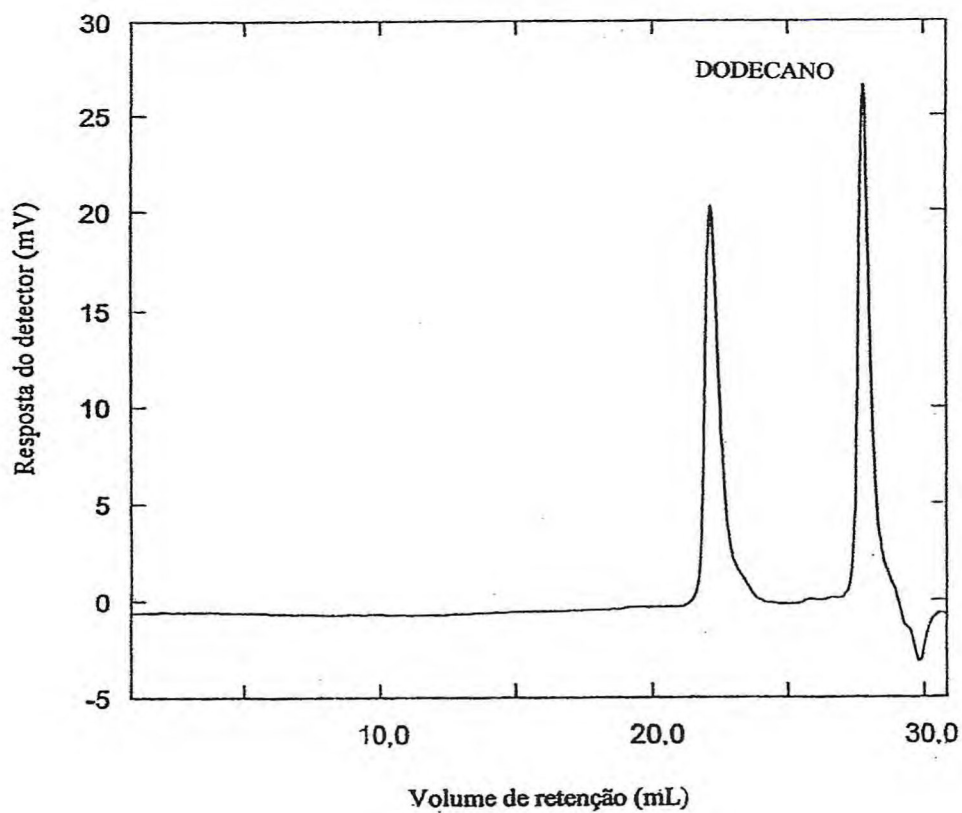


Figura 13. Curva de GPC representativa para o copolímero $E_mS_nE_m$.

3. ESPALHAMENTO DE LUZ

3.1. ESPALHAMENTO DE LUZ

O fenômeno de espalhamento de luz é encontrado amplamente na vida cotidiana. Como o próprio nome sugere, é o resultado de uma interação de radiação eletromagnética com a matéria, o que leva à dispersão da radiação. Um exemplo é a luz espalhada pelas partículas de pó que, por sua vez, fazem com que um feixe de luz ao passar através de uma janela pareça uma faixa de luz. O exemplo mais comum ocorre quando de moléculas de gás na atmosfera provocam o espalhamento da luz, dando origem às cores azul e vermelho do céu, que por vezes podem ser vistos ao amanhecer e anoitecer.

A teoria do espalhamento luz foi inicialmente apresentada por Lord Rayleigh, em 1871, enquanto estudava as propriedades dos gases. Nesta teoria molecular, assume-se que as dimensões das partículas são muito menores do que o comprimento de onda da luz monocromática incidente; também pressupõe-se que o espalhamento é perfeitamente elástico, isto é, que não há mudança entre o comprimento de onda da luz incidente e da luz espalhada. Debye (1944; 1947) expandiu essa teoria para partículas grandes, incluindo os efeitos de interferência intramolecular entre ondas espalhadas por diferentes partes da mesma molécula. Posteriormente, Zimm expandiu a teoria de Rayleigh-Debye e calculou a intensidade de espalhamento para uma solução polimérica diluída, no melhor solvente possível.

O Espalhamento de luz é um método amplamente usado na caracterização de polímeros, proporcionando informações sobre as propriedades estáticas e dinâmicas de uma solução polimérica. Informações como massa molar média M_w , o δt de fator de expansão termodinâmico e número médio de agregação N_w , podem ser obtidas a partir de um único experimento. Estas propriedades estáticas da molécula de polímero solvatada e não dependem da dinâmica Browniana da cadeia. O coeficiente de difusão de translacional D , e conseqüentemente o rádio hidrodinâmico r_h , podem ser obtidos a partir de experimentos espalhamento de luz dinâmico. Estes parâmetros são influenciados pelo movimento browniano das moléculas de polímero em soluções diluídas, o qual é devido às forças friccionais entre as cadeias poliméricas e o solvente.

Quando um feixe de radiação eletromagnética passa através de uma solução polimérica, interage com aquela solução com seus campos elétrico ou magnético, ou ambos. Na ausência de um campo magnético, a interação do feixe com a solução é dominada pela interação dos elétrons das moléculas poliméricas com o campo elétrico

produzido pela radiação incidente. A radiação incidente pode ser absorvida ou pode ser espalhada pela solução. Absorção requer energia quantizada e só acontece quando a energia da radiação é igual à diferença entre dois níveis de energia de uma molécula. O espalhamento, porém, não requer estas condições específicas que governam o processo de absorção.

Luz é espalhada quando o campo elétrico do feixe incidente induz à polarização da nuvem eletrônica da molécula de polímero. A nuvem eletrônica sofre deslocalização em relação ao núcleo positivamente carregado, gerando um momento de dipolo instantâneo. O momento induzido pode ser expresso em termos da polarizabilidade α , de acordo com a equação de Lorenz-Lorentz, que será deduzida a seguir.

O momento de dipolo induzido oscila em fase com o campo elétrico, espalhando radiação em todas as direções. Se a radiação espalhada tiver a mesma energia e comprimento de onda do feixe incidente, ocorre o chamado espalhamento elástico, mas se a radiação espalhada tem energia e comprimento de onda diferentes daqueles do feixe incidente, então ocorre o espalhamento inelástico.

3.1.1. ESPALHAMENTO DE LUZ ESTÁTICO (SLS)

No espalhamento de luz estático, a luz espalhada é coletada em períodos de tempo muito mais longos do que a escala de tempo do movimento das partículas e a luz espalhada resultante é uma média sobre o número de partículas no volume de espalhamento. Espalhamento de Luz Estático (SLS) para polímeros em solução, fornece informações da massa molar das micelas ($M_{w,mic}$), seu número de associação (N_w) e seu fator de expansão termodinâmica (δt) ou fator de intumescimento. SLS é também um método para determinação da temperatura micelar crítica (cmt) e concentração micelar crítica (cmc).

O espalhamento de luz a partir de soluções surge da polarizabilidade, α , espalhamento de luz, do soluto e solvente. Momentos de dipolo oscilantes (P) induzidos pelo campo elétrico (E) do feixe de luz incidente irradiam luz em todas as direções. A intensidade da luz espalhada é relacionada com a polarização da luz incidente, o ângulo de espalhamento e os parâmetros da solução e é regido pela equação Hertz, conforme mostrado abaixo:

$$I_V/I_{V0} = (16\pi^4\alpha^2/\lambda^4) (\sin^2\gamma/d^2) \quad (\text{Eq. 21})$$

onde I_{V0} é a intensidade da luz incidente e I_V é a intensidade da luz espalhada, medidas em um ângulo γ e a uma distância d da partícula, e λ é o comprimento de onda da luz.

O Laser em instrumentos de espalhamento de luz é geralmente verticalmente polarizado, ou seja, polarizado no plano-xz, a 90° do plano xy, como mostrado na Figura 14. As equações a partir deste ponto assumem que este é o caso.

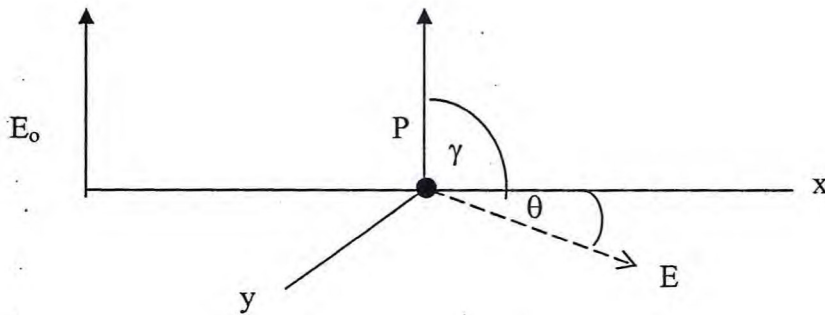


Figura 14. Diagrama mostrando a luz verticalmente polarizada, onde $\gamma = 90^\circ$ e $\sin \gamma = 1$.

Com a introdução de um termo chamado de "razão de Rayleigh", podemos agora simplificar a equação de Hertz:

$$R_V = 16\pi^4\alpha^2/\lambda^4 \quad (\text{Eq. 22})$$

onde a razão de Rayleigh, $R_V = I_V d^2/I_{V0}$.

A quantidade desconhecida na equação 22 é a polarizabilidade α de uma única partícula. A equação de Lorentz-Lorentz pode ser usada para relacionar a polarizabilidade ao índice de refração, n , e à massa molar das partículas, M , como segue:

$$\alpha^2 \approx (dn/dc)^2 (M^2/4\pi^2 N_A^2) \quad (\text{Eq. 23})$$

onde N_A é o número de Avogadro. O incremento do índice de refração, (dn/dc) , é obtido em um experimento separado, pela medida de n em função da concentração ($c/g\text{ cm}^{-3}$).

Para uma partícula pequena,

$$R_V = (4\pi^2/\lambda^4 N_A^2)(dn/dc)^2 M^2 \quad (\text{Eq. 24})$$

Para N partículas pequenas e, partindo do princípio de que cada partícula espalha luz independentemente das outras, a intensidade registrada a partir de uma unidade de volume da solução é N vezes maior e, uma vez que a concentração é $c = NM/N_A$, para N partículas por cm^3 , obtemos:

$$R_V = (4\pi^2/\lambda^4 N_A)(dn/dc)^2 cM \quad (\text{Eq. 25})$$

Simplificando, temos que:

$$R_V = K_V cM \quad (\text{Eq. 26})$$

onde K_V é a constante ótica ($K_V = (4\pi^2/\lambda^4 N_A)(dn/dc)^2$).

A equação 26 é conhecida como a equação de Rayleigh-Gans-Debye e é a forma mais simples da equação de espalhamento; entretanto, só se aplica à luz espalhada a partir de um gás ideal e deve ser modificada de várias maneiras, antes de poder ser aplicada para descrever a luz espalhada por soluções poliméricas reais. Para polímeros em soluções diluídas ideais, a equação deve ser modificada para compensar o espalhamento do solvente, utilizando-se quantidades excedentes:

Intensidade de espalhamento em excesso, $I_{\text{solution}} - I_{\text{solvent}}$

Polarizabilidade em excesso, $\alpha_{\text{solution}} - \alpha_{\text{solvent}}$

A equação de Rayleigh-Debye-Gans mantém a mesma forma, mas a constante ótica agora contém um parâmetro extra, o índice de refração do solvente, n_s :

$$K_V = (4\pi^2/\lambda^4 N_A) n_s^2 (dn/dc)^2 \quad (\text{Eq. 27})$$

No entanto, em soluções reais as partículas interagem entre si e com as moléculas do solvente, dando origem a uma interferência destrutiva da luz a partir de diferentes pontos na solução, o que reduz a intensidade da luz espalhada para valores inferiores à soma da intensidade do espalhamento de cada molécula. Por isso, é necessário extrapolar quaisquer dados de espalhamento de luz para diluição infinita, onde a equação “ideal” se aplica. Para uma solução verdadeira, a equação de Rayleigh-Gans-Debye, vulgarmente conhecida como a equação Debye, é modificada para a seguinte forma:

$$K_V c / R_V = 1/M + 2A_2 c + 3A_3 c^2 + \dots \quad (\text{Eq. 28})$$

onde A_2 e A_3 são os segundo e terceiro coeficientes viriais, respectivamente, que são parâmetros quantitativos que caracterizam a interação das partículas em solução. Para obter a massa molar, é feito um gráfico de $(K_V c / R_V)$ contra c e extrapolado para diluição infinita:

$$(K_V c / R_V)_{c=0} = 1/M \quad (\text{Eq. 29})$$

A equação de Rayleigh-Debye-Gans pode ser para polímeros de alta massa molar, cujo tamanho é superior $\lambda/20$ nm, e, portanto, as partículas não podem mais ser consideradas como pontos de espalhamento. A luz é dispersa entre as diferentes partes da molécula do polímero e varia em fase. A interferência intramolecular resultante provoca a dependência da luz espalhada com ângulo. Nenhuma interferência ocorre em $\theta=0$, onde a diferença de fase é igual a zero. Devido à contínua presença do feixe incidente, as medições não podem ser tomadas em ângulo zero, mas em diversos ângulos e extrapolados para o ângulo zero. Assim, para uma solução diluída ideal de moléculas grandes, a equação de Rayleigh-Gans-Debye é modificada pela introdução do fator de espalhamento intrapartícula, P_θ , que descreve a variação angular da luz em concentrações constantes:

$$K_V c / R_{V\theta} = 1/MP_\theta \quad (\text{Eq. 30})$$

P_θ depende do raio de equilíbrio (raio de giro, R_g), da partícula na solução e do ângulo, θ :

$$P_\theta = 1 - (q^2/3) \langle r_g^2 \rangle \quad (\text{Eq. 31})$$

onde $q = (4\pi n_s/\lambda)\text{sen}(\theta/2)$ é o vetor de espalhamento e a notação $\langle \rangle$ representa o tempos médios. P_θ foi avaliado para partículas com formas básicas, como por exemplo, esferas (Zimm, Stein e Doty, 1945; Gans, 1925), barras e rolos gaussianas (Debye, 1947). Para uma bobina gaussiana, $\langle r_g^2 \rangle = \langle r^2 \rangle / 6$, onde r é a distância de um extremo ao outro da molécula. Quando $(q^2/3)\langle r_g^2 \rangle$ é pequeno:

$$1/P_\theta = 1 + (q^2/3)\langle r_g^2 \rangle \quad (\text{Eq. 32})$$

Combinando as equações 30 e 32, temos:

$$K_{Vc}/R_{V\theta} = (1/M)[1 + (1/3)(4\pi n_s/\lambda)^2 \langle r_g^2 \rangle \text{sen}^2(\theta/2) + \dots] \quad (\text{Eq. 33})$$

Para soluções reais de polímeros de alta massa molar, é necessário extrapolar os dados de espalhamento de luz para concentração e ângulo zero. Dados deste tipo são normalmente analisados por uma dupla extrapolação do gráfico de Zimm (1948), no qual K_{Vc}/R_V é medido em várias concentrações e ângulos e um único gráfico é obtido (Fig. 15). O gráfico de Zimm é construído colocando-se (Kc/R) contra $[\text{sen}^2(\theta/2) + Bc]$, onde B é uma constante ajustada para obter uma separação clara de todos os dados. O intercepto é igual a $1/M$:

$$(K_{Vc}/R_{V\theta})_{c=0, \theta=0} = 1/M \quad (\text{Eq. 34})$$

Valores de $\langle r_g^2 \rangle$ são determinados a partir do coeficiente angular de $(K_{Vc}/R_{V\theta})_{c=0}$ contra $\text{sen}^2(\theta/2)$, que é dado por $(16\pi^2 n_s^2 / 3\lambda^2 M) \langle r_g^2 \rangle$. Valores de A_2 são determinados a partir do coeficiente angular de $(Kc/R_\theta)_{\theta=0}$ contra c , onde o gradiente é igual a $2A_2$.

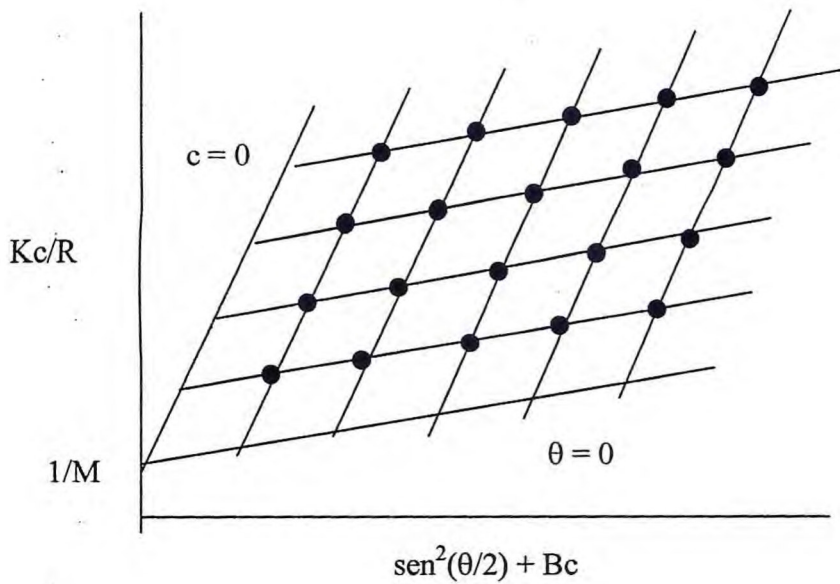


Figura 15. Ilustração de um gráfico de Zimm.

Amostras de polímeros apresentam algum grau de polidispersidade devido à variação do comprimento molécula polimérica. Portanto, os parâmetros M e $\langle r_g^2 \rangle$ obtidos por Espalhamento de Luz Estático são apenas valores médios. Se ignorarmos as interações inter- e intrapartícula, por simplicidade, para qualquer espécie na distribuição, temos:

$$R_{v\theta i} = K_v c_i M_i P_{\theta i} \quad (\text{Eq. 35})$$

Para todas as espécies na distribuição:

$$R_{\theta} = K \sum_i c_i M_i P_{\theta i} \quad (\text{Eq. 36})$$

Portanto:

$$R_{\theta} = K \frac{\sum_i c_i M_i P_{\theta i}}{\sum_i c_i M_i} \frac{\sum_i c_i M_i}{\sum_i c_i} \sum_i c_i \quad (\text{Eq. 37})$$

Ou seja,

$$R_{v\theta} = K_v (P_{\theta})_z M_w c \quad \text{ou} \quad K_v c / R_{v\theta} = 1 / M_w (P_{\theta})_z \quad (\text{Eq. 38})$$

A partir da equação 38, pode-se observar que para polímeros polidispersas, a massa molar peso médio, M_w , e z-média de P_θ podem ser adquiridos. Uma vez que $\langle r_g^2 \rangle$ é derivado de P_θ , temos que z-média de $\langle r_g^2 \rangle$ pode ser obtido a partir do Espalhamento de Luz Estático de soluções poliméricas.

Na prática, a razão de Rayleigh não pode ser medida diretamente. A razão de Rayleigh envolve I_0 e D , parâmetros não medidos experimentalmente. I_0 não é medido diretamente, devido à grande diferença de intensidade entre a luz incidente e a luz espalhada. Em vez disso, um líquido padrão, como o benzeno, é utilizado como um padrão secundário. A razão de Rayleigh para o padrão em um determinado ângulo de observação (90°) e em um volume fixo de espalhamento, v , é dado por:

$$R_v B = (I_v B / v) d^2 / I_{v0} \quad (\text{Eq. 39})$$

ou

$$I_{v0} = I_v B (d^2 / v) / R_v B \quad (\text{Eq. 40})$$

Para uma solução de polímero, a razão de Rayleigh para o espalhamento que excede aquele devido ao solvente é a seguinte:

$$R_v = (I - I_s) (d^2 / v) / I_{v0} \quad (\text{Eq. 41})$$

Portanto:

$$R_v = [(I_v - I_{vs}) / I_B] R_v B (n_s / n_B)^2 \quad (\text{Eq. 42})$$

onde o termo $(n_s / n_B)^2$ foi incluído para corrigir a alteração no volume de espalhamento causado pelos diferentes índices de refração do solvente e do benzeno. Por simplicidade, $[(I_v - I_{vs}) / I_B]$, é denotado por $(S - S_s)$, e a equação para R assume a forma;

$$R = (S - S_s) R_B (n_s / n_B)^2 \quad (\text{Eq. 43})$$

E a função espalhamento de luz é expressa por:

$$(K_v c / R_v) = [K_v c / (S - S_s)] R_v B (n_B / n_s)^2 \quad (\text{Eq. 44})$$

onde $K_v = 4\pi^2 n_s^2 (dn/dc)^2 / \lambda^4 N_A$.

Portanto:

$$(K_v c / R_v) = K_v^* [c / (S - S_s)] \quad (\text{Eq. 45})$$

onde $K_v^* = (4\pi^2 / N_A \lambda^4) (n_B^2 / R_{vB}) (dn/dc)^2$.

A massa molar de uma molécula polímero é simplesmente obtida através do gráfico de $K_v^* [c / (S - S_s)]$ contra c e calculando M_w de:

$$K^* [c / (S - S_s)]_{c=0} = 1 / M_w \quad (\text{Eq. 46})$$

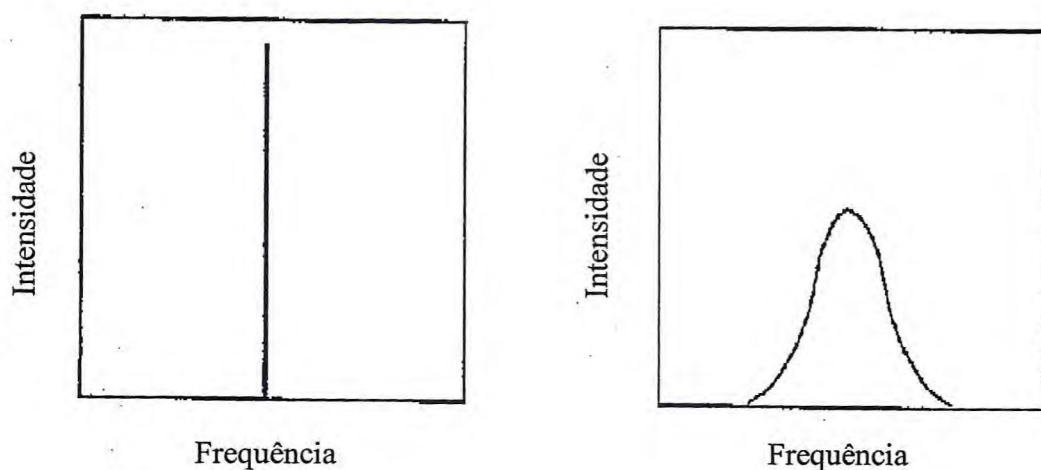
3.1.2. ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (DLS)

O Espalhamento de Luz Dinâmico está relacionado com as propriedades da luz espalhada que são dependentes do tempo. Partículas em solução mudam suas posições de maneira aleatória, provocando interferência e, conseqüentemente, resultando em flutuações na intensidade da luz espalhada. Estas flutuações surgem devido às diferentes extensões de interferência da luz espalhada acontece de centros que constantemente estão mudando de posição. O tempo requerido para que ocorram as flutuações de intensidade fornece informações valiosas sobre as propriedades dinâmicas das moléculas poliméricas. Em solução diluída as interações das partículas individuais é desprezível. Em soluções mais concentradas, os movimentos aleatórios das partículas podem ser descritos como movimentos em três dimensões, o que faz com que as fases das ondas de luz espalhadas a partir de partículas mudem com o tempo. Isto leva a uma flutuação "aleatória" da intensidade, ou seja, a intensidade varia com o tempo como mostrado na Figura 16. As considerações teóricas e práticas do Espalhamento de Luz Dinâmico foram discutidas extensivamente por diversos autores (Brown, 1993; Pecora, 1985; Chu, 1991; Schmitz, 1995; King, T.A., 1989).

Em experimentos de Espalhamento de Luz Dinâmico, a flutuação da intensidade é observada e a taxa de variação é utilizada para obter informações sobre os movimentos das partículas. Uma vez que o coeficiente de difusão translacional, D , determina a dinâmica das partículas em movimento e, portanto, as oscilações de intensidade da luz espalhada, é essa a quantidade determinada pelo Espalhamento de

Luz Dinâmico. Partículas grandes têm movimento mais lento que as partículas pequenas, isto é, têm baixos valores de D , dando origem a lentas flutuações na intensidade de espalhamento lento e vice-versa. Em princípio, o coeficiente de difusão translacional pode ser obtido a partir da largura da linha espectral; mas essa largura é muito pequena quando comparada com a frequência da luz incidente e não é fácil de medir e, portanto, a flutuação da intensidade é utilizada. A melhor maneira de caracterizar um sinal flutuante é através da sua função de correlação, como será visto a seguir.

(a)



(b)

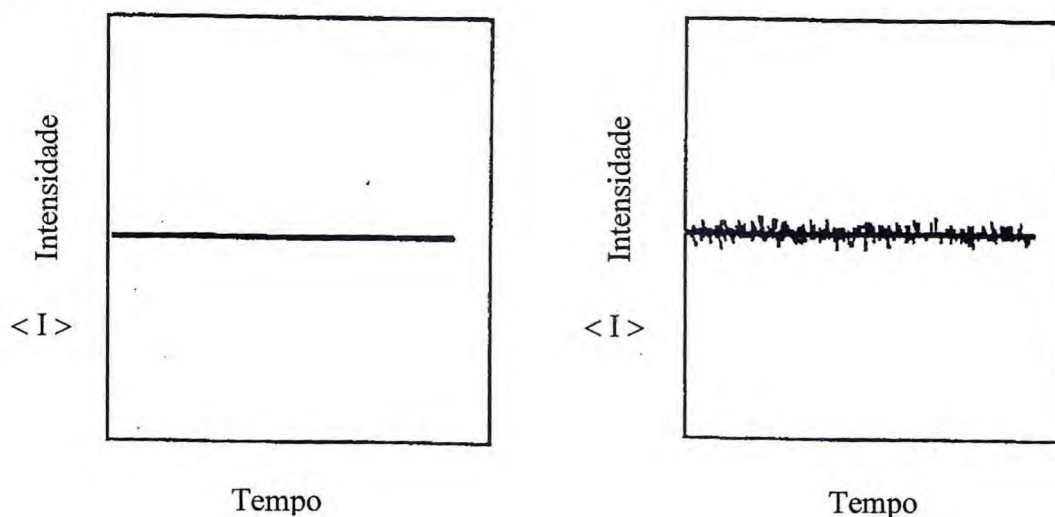


Figura 16. (a) Intensidade versus frequência para sistemas estáticos e dinâmicos e (b) Intensidade versus tempo para sistemas estáticos e dinâmicos respectivamente.

Intensidades são repetidamente medidas em curtos intervalos de tempo ($\Delta\tau$, μs a ms) durante um longo período (t , ms a s) e registradas em computador. A medida é repetida muitas vezes ao longo de um experimento de vários minutos. A intensidade média, $\langle I \rangle$, sobre o tempo de medida é determinada, e as diferenças (ΔI) entre cada intensidade individual e a intensidade média são calculadas. Os valores dessas diferenças serão positivos ou negativos, dependendo do sinal da flutuação em um tempo qualquer. Se o “delay time” for pequeno, τ , os valores das duas intensidades em um par (ΔI_1 e ΔI_2) serão provavelmente ambos positivos ou ambos negativos. Considerando-se o gradiente da diferença de intensidade para o “delay time” Δt , a média dos produtos ($\Delta I_1 \Delta I_2$) para um pequeno valor de τ será grande e positiva. Contudo, se τ for grande, as duas intensidades em um par tanto podem apresentar sinais opostos quanto sinais iguais e a média dos produtos para um valor grande de τ será pequena, tendendo a zero no limite de τ muito grande. Para cada valor de τ , muitos produtos $\Delta I_1 \Delta I_2$ calculados e o valor médio é determinado para todas as medidas no experimento. A média dos produtos para vários valores de τ (normalmente cerca de 50) são graficados contra τ para obter uma curva de correlação.

Na prática, o procedimento difere do que foi descrito anteriormente, com resultado final semelhante. O melhor valor da intensidade média não é conhecido até o final do experimento, assim como as próprias intensidades, que são acumuladas e cujas médias são tiradas, preferencialmente às diferenças de intensidade. O melhor correlacionadores acumulação de dados ($N = 400\text{-}500$ canais) e permitem mais de uma escolha de Δt . Pequenos valores de Δt permitem uma boa definição da curva de correlação em valores pequenos de τ ; grandes valores de Δt permitem valores de τ longos o suficiente para estabelecer a linha de base.

À medida que o experimento prossegue, pares de intensidades separadas por determinados “delay times” são multiplicados juntos, fazendo-se a média de seus produtos de intensidade a fim de produzir uma quantidade chamada de função correlação de intensidade, denotada por $G^{(2)}(\tau)$ e definida como:

$$G^{(2)}(\tau) = \frac{1}{T} \int_0^T I(t) I(t + \tau) dt \quad (\text{Eq. 47})$$

onde T é o tempo durante o qual os produtos de pares de intensidade são medidos.

Em princípio, a acumulação da função correlação, que ocorre no computador, dá-se

da seguinte maneira:

No primeiro canal:

$$G^{(2)}(\Delta t) = \frac{1}{(N-1)} [I_1 I_2 + I_2 I_3 + I_3 I_4 \dots] = \frac{1}{(N-1)} \sum_{n=1}^{(N-1)} I_n I_{n+1} \quad (\text{Eq. 48})$$

No segundo canal:

$$G^{(2)}(\Delta t) = \frac{1}{(N-1)} [I_1 I_2 + I_2 I_3 + I_3 I_4 \dots] = \frac{1}{(N-1)} \sum_{n=1}^{(N-1)} I_n I_{n+1} \quad (\text{Eq. 49})$$

De maneira geral:

$$G^{(2)}(k\Delta t) = \frac{1}{(N-k)} [I_1 I_{k+1} + I_2 I_{k+2} + I_3 I_{k+3} \dots] = \frac{1}{(N-k)} \sum_{n=1}^{(N-k)} I_n I_{n+k} \quad (\text{Eq. 50})$$

Esse procedimento continua até que $N = N_{\max}$, onde N_{\max} é escolhido para assegurar uma definição adequada da linha de base. A notação $\langle I_n I_{n+m} \rangle$ significa a média sobre todos os valores de n de 1 a $N-m$.

Para uma determinada amostra, todo o procedimento é repetido várias vezes, e o resultado final é a média de todos os conjuntos de dados aceitável. O correlacionador irá rejeitar quaisquer resultados que difiram significativamente dos demais; tais resultados são geralmente devidos à grande dispersão das partículas de poeira na amostra.

Qualquer intensidade pode ser escrita como

$\langle I \rangle + \Delta I$, onde ΔI é a flutuação aleatória sobre a média, que pode ser positiva ou negativa. Portanto, a função de intensidade correlação para $\tau = m\Delta t$ is:

$$G^{(2)}(\tau) = \langle I_n I_{n+m} \rangle = \langle I \rangle^2 + \langle \Delta I_n \Delta I_{n+m} \rangle \quad (\text{Eq. 51})$$

onde $\langle I \rangle^2$, o quadrado da intensidade média, é uma constante para determinadas condições experimentais.

Para um polímero uniforme, o valor de $G^{(2)}(\tau)$ cai exponencialmente à medida que τ aumenta. Um gráfico típico da curva é mostrado na Fig. 17.

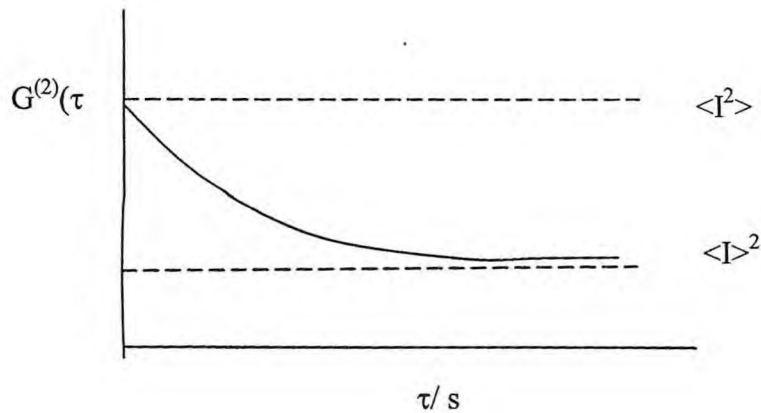


Figura 17. Função intensidade de correlação.

A equação da curva é:

$$G^{(2)}(\tau) = A + B \exp(-2\Gamma\tau) \quad (\text{Eq. 52})$$

onde a linha de base, $A = \langle I \rangle^2$, é uma constante característica do instrumento e condições e Γ é a taxa de decaimento característica.

A função de correlação pode ser ajustada com esta equação para se obter Γ , A and B . Obtendo o valor de Γ , o valor de D é obtido a partir de:

$$\Gamma = Dq^2 \quad (\text{Eq. 53})$$

onde $q = [(4\pi n_s/\lambda)\sin(\theta/2)]$ é vetor de espalhamento.

Note-se que um rápido decaimento de $G^{(2)}(\tau)$ significa um grande valor de Γ e, portanto, u grande valor de D , ou seja, uma molécula pequena. Normalmente, é necessário construir um gráfico de D contra c para obter um coeficiente de difusão característico da diluição infinita D_0 .

Para obter uma função correlação “normalizada”, $g^{(2)}\tau$, a função correlação de intensidade $G^{(2)}\tau$, é dividida por $A = \langle I \rangle^2$:

$$g^{(2)}(\tau) = 1 + (B/A)\exp(-2\Gamma\tau) = 1 + \beta\exp(-2\Gamma\tau) \quad (\text{Eq. 54})$$

onde $\beta = B/A$ é uma nova constante aproximadamente igual a um, e é chamada de fator de coerência espacial. Uma vez que $\beta \approx 1$, $g^{(2)}(\tau)$ cai no valor de 2 a 1, à medida que τ aumenta de 0 a ∞ . Com essa função correlação, o procedimento é construir o gráfico $\ln[g^{(2)}(\tau)-1]$ contra τ , para obter (pelo método dos quadrados mínimos) uma linha reta de inclinação -2Γ .

Como descrito acima, a curva de decaimento tem uma forma uni-exponencial apenas quando o soluto é uniforme, ou seja, apresenta uma única espécie, e uma forma quase-uni-exponencial quando a distribuição de massa molar é bastante estreita. Se a distribuição da massa molar é ampla (ou bimodal), então a distribuição da taxa de decaimento é larga, e o gráfico de $\log[g^{(1)}(\tau)]$ contra τ não é linear. Neste caso, o procedimento é ajustar a curva decaimento experimental com a curva calculada assumindo uma distribuição de taxas de decaimento. Isto é feito por um computador, geralmente para um pequeno conjunto de valores discretos de Γ (50, aproximadamente).

A função campo correlação, $g^{(1)}(\tau)$, para uma dada espécie é sempre uma função exponencial simples:

$$g^{(1)}(\tau) = \exp(-\Gamma_j\tau) \quad (\text{Eq. 55})$$

onde Γ_j é a taxa de decaimento característica da espécie j . Se o polímero é composto por duas espécies, a função campo correlação contém dois termos, cada um ponderado pela intensidade de luz espalhada a partir de cada espécie:

$$g^{(1)}(\tau) = I_1 \exp(-\Gamma_1\tau) + I_2 \exp(-\Gamma_2\tau) \quad (\text{Eq. 56})$$

No entanto, a função intensidade de correlação contém quatro termos:

$$g^{(2)}(\tau) = 1 + \beta [g^{(1)}(\tau)]^2 \quad (\text{Eq. 57})$$

$$g^{(2)}(\tau) = 1 + \beta [I_1^2 \exp(-2\Gamma_1\tau) + 2I_1I_2 \exp(-(\Gamma_1 + \Gamma_2)\tau) + I_2^2 \exp(-2\Gamma_2\tau)] \quad (\text{Eq. 58})$$

Por este motivo, é imprescindível a utilização de $g^{(1)}(\tau)$ na análise de dados de Espalhamento de Luz Dinâmico polímeros polidispersos.

Voltando à função campo correlação de um polímero de dois componentes, o gráfico de $\ln[g^{(1)}(\tau)]$ contra τ já não é uma linha reta, mas tem duas porções lineares. Esta curva representa os dados experimentais. O problema é usar os dados experimentais para encontrar as duas taxas de decaimento, Γ_1 and Γ_2 , que, quando substituído na equação:

$$I_1 \exp(-\Gamma_1 \tau) + I_2 \exp(-\Gamma_2 \tau) = g^{(1)}(\tau)_{\text{calc}} \quad (\text{Eq. 59})$$

reproduzem a curva de decaimento observada. Um polímero polidisperso terá uma ampla distribuição de taxas de decaimento e o problema é mais complicado.

Assume-se que existem K pontos de dados correspondentes ao “delay time” τ_k ($k = 1$ to K) e que a distribuição contém J espécies com taxas de decaimento Γ_j ($j = 1$ to J). Em qualquer ponto de dados, a função campo de correlação é a soma dos termos J :

$$g^{(1)}(\tau_k) = \sum_{j=1}^J I_j \exp(-\Gamma_j \tau_k) \quad (\text{Eq. 60})$$

$$g^{(1)}(\tau_k) = \sum_{j=1}^J I_j \exp(-\Gamma_j \tau_k) \quad (\text{Eq. 61})$$

A distribuição de intensidade das taxas de decaimento, $I(\Gamma)$, é necessária, o que pode ser obtido através (a) de uma apropriada distribuição da taxa de decaimento; (b) do cálculo de $g^{(1)}(\tau)_{\text{calc}}$ para valores de τ correspondendo aos pontos de dados K ; (c) do teste de $g^{(1)}(\tau)_{\text{calc}}$ contra os dados experimentais $g^{(1)}(\tau)_{\text{exp}}$. Embora esteja disponível em muitos equipamentos, o método não-linear dos quadrados mínimos não é muito útil, uma vez que não necessariamente fornece a melhor solução.

Em 1979, este problema foi resolvido pelo programa computacional Contin (Provencher, 1979), que é considerado como a melhor forma de analisar correlação de dados em Espalhamento de Luz Dinâmico. Contin é um método que procura a solução ótima pela (o):

(i) Rejeição de todas as soluções não razoáveis

Isto inclui soluções com valores negativos na distribuição, redundante e soluções redundantes, por exemplo, a distribuição de intensidade das taxas de decaimento $I(\Gamma) + A \sin(\omega\Gamma)$, que tem a mesma bondade de ajuste como $I(\Gamma)$.

(ii) O princípio da parcimônia

Todas as soluções remanescentes após a aplicação da limitação (i) são consideradas, bem como a solução mais simples é a escolhida (ou seja, a que contém a menor quantidade de detalhes).

Ao aplicar o método CONTIN, várias distribuições de intensidade são obtidas e aquela que minimiza soma VAR + REG é aceita. VAR é a variância dos quadrados mínimos:

$$\text{VAR} = \sum_{k=1}^K [g^{(1)}(\tau_k)_{\text{exp}} - g^{(1)}(\tau_k)_{\text{calc}}]^2 \quad (\text{Eq. 62})$$

onde a soma é sobre K termos (K “delay times”) e para cada um deles $g^{(1)}(\tau_k)_{\text{exp}}$ é o valor medido e $g^{(1)}(\tau_k)_{\text{calc}}$ é o valor calculado:

$$g^{(1)}(\tau_k)_{\text{calc}} = \sum_{j=1}^J I_j \exp(-\Gamma_j \tau_k) \quad (\text{Eq. 63})$$

REG é definido como:

$$\text{REG} = \alpha^2 \sum_{j=1}^J [(d^2 I / d\Gamma^2)_j]^2 \quad (\text{Eq. 64})$$

onde α é o parâmetro de regularização. O valor de α controla a força da regularização; quando $\alpha \rightarrow 0$, será equivalente ao método dos quadrados mínimos, não-linear, não-negativo, enquanto que quanto maior for α , mais penalizadas são soluções com muitos picos. O programa Contin geralmente apresenta uma progressão de soluções com α crescente. Uma questão muito importante é selecionar o valor de α corretamente. Provencher utilizou o teste F-Fisher, que é adequado quando pouco se sabe sobre a solução ou erros. Para esse propósito, o CONTIN computa em primeiro lugar uma solução referência com $\alpha \sim 0$, que fornece o ajuste exponencial ótimo não negativo.

É necessário ter cuidado na interpretação dos resultados do Contin e não se deve aceitar automaticamente a solução escolhida como sendo a mais próxima da realidade, sobretudo se a solução não atende às expectativas. É necessário analisar as soluções que são mais ou menos penalizadas, para verificar se uma característica particular (pico,

banda) é robusta às alterações em α . Geralmente o Contin fornece soluções de boa precisão para distribuições unimodais e precisão aceitável para distribuições bimodais.

Os resultados do CONTIN listam os momentos da distribuição de intensidades das taxas de decaimento, $I(\Gamma)$:

$$m_p = \sum_{j=1}^J I_j \Gamma_j^p \quad p = -3 \text{ to } +4 \quad (\text{Eq. 65})$$

A intensidade média da taxa de decaimento (ou seja, a z-média em condições ideais) corresponde à razão dos momentos de $p=1$ a $p=0$:

$$\Gamma_z = \frac{\sum_j I_j \Gamma_j}{\sum_j I_j} \quad (\text{soma sobre todos os valores } j) \quad (\text{Eq. 66})$$

Com o correspondente coeficiente de difusão z-médio $D_z = (1/q^2)\Gamma_z$, e inverso do raio hidrodinâmico z-médio $(1/r_h)_z = C\Gamma_z$.

O coeficiente de difusão translacional medido é relacionado à estrutura do polímero solvatada pelo solvente, agindo como uma unidade cinética única. A equação de Stokes-Einstein relaciona D com o raio hidrodinâmico equivalente, r_h , ou seja, o raio da esfera rígida com as propriedades difusionais equivalentes:

$$D = (kT/6\pi\eta)(1/r_h) \quad (\text{Eq. 67})$$

onde η é a viscosidade do solvente. Portanto, o método de Espalhamento de Luz Dinâmico dá diretamente o r_h do coil do polímero:

$$r_h = kT/6\pi\eta D \quad (\text{Eq. 68})$$

O volume hidrodinâmico correspondente é $v_h = (4/3)\pi r_h^3$.

Espalhamento de Luz Dinâmico pode ser usado para caracterizar polímeros, com distribuições de tamanho. Polímeros polidispersos têm uma distribuição de tamanhos e, por conseguinte, uma distribuição de constantes de decaimento, o que conduz a uma modificação na forma da função correlação. O procedimento é ajustar a função

correlação com a distribuição das constantes de decaimento. Isto é feito por computador, geralmente para um pequeno conjunto de valores discretos de Γ . A distribuição das constantes de decaimento, que melhor se ajustam à função correlação é então convertida a uma distribuição dos coeficientes de difusão e, se necessário, para uma distribuição de raios hidrodinâmicos. Distribuições encontradas desta forma não são muito precisas. Normalmente, o programa de computador permitirá mais de uma resposta possível.

Para polímeros polidispersos, a contribuição de cada espécie para Espalhamento de Luz Dinâmico é determinada pela intensidade do espalhamento, ou seja, pela média do coeficiente de difusão:

$$D_{dls} = \frac{\sum_i I_i D_i}{\sum_i I_i} \quad (\text{Eq. 69})$$

Para partículas grandes, interferências intramoleculares devem ser levadas em conta. Uma vez que a intensidade de espalhamento de uma espécie qualquer é proporcional à $c_i M_i P_{\theta i}$, a média é:

$$D_{dls} = \frac{\sum_i c_i M_i P_{\theta i} D_i}{\sum_i c_i M_i P_{\theta i}} \quad (\text{Eq. 70})$$

Para as pequenas partículas, onde

$M < 20,000 \text{ g mol}^{-1}$, diâmetro $< 20 \text{ nm}$ $P_{\theta} \rightarrow 1$:

$$D_{dls} = \frac{\sum_i c_i M_i D_i}{\sum_i c_i M_i} = \frac{\sum_i z_i D_i}{\sum_i z_i} = D_z \quad (\text{Eq. 71})$$

Para partículas grandes, as medidas podem ser efetuadas em baixos ângulos para minimizar efeito de interferência. Para sistemas polidispersos, a equação de Stokes-Einstein produz a z-média de $1/r_h$, ou seja, $(1/r_h)_z$. Assim, o raio hidrodinâmico médio obtido por Espalhamento de Luz Dinâmico é:

$$[(1/r_h)_z]^{-1} \quad (\text{Eq. 72})$$

3.2. EXPERIMENTAL

Para as medidas de espalhamento de luz, foram preparadas soluções dos copolímeros com concentrações variando de 0,1 a 5,0 g.dm³. A água utilizada na *preparação das soluções foi desionizada e filtrada* em membranas Millipore UV com porosidade de 0,1 µm. As células foram lavadas com vapor de acetona imediatamente antes do uso, para assegurar a eliminação partículas de poeira. As soluções dos copolímeros foram filtradas em membranas Millipore Millex com porosidade de 0,22 µm diretamente para as células. As intensidades de espalhamento de luz estático (SLS) foram medidas por meio de instrumento Brookhaven BI2005, usando luz incidente polarizada verticalmente no comprimento de onda de 488 nm acoplado a um laser de argônio-íon, operando a 500 mW ou menos usando um corretor digital Brookhaven BI9000AT para aquisição dos dados. A escala de intensidade foi calibrada contra benzeno. A duração do experimento foi na faixa de 10 a 20 minutos, e cada experimento foi repetido duas ou mais vezes. A intensidade da luz espalhada é geralmente com feixe de incidência num ângulo $q = 90^\circ$. Medidas de espalhamento de luz dinâmico foram obtidas com equipamento Brookhaven BI 200S, combinado com um correlacionador digital Brookhaven BI 9000 A, adotando-se os mesmos procedimentos descritos acima.

A base para análise de SLS foi a equação de Debye:

$$k^* c / (I - I_s) = 1/M_{w,mic} + 2A_2c + \dots \quad (\text{Eq. 73})$$

onde I é a intensidade da luz espalhada pela solução de benzeno, I_s , a quantidade correspondente para o solvente, c é a concentração (em mg/dm³), $M_{w,mic}$ é a massa molar média do soluto micelar, A_2 é o segundo coeficiente virial (coeficientes altos tornam-se negligenciados na equação 41), e k^* é a constante óptica apropriada. Valores de índice de refração específico aumentam o dn/dc com o aumento da temperatura e outras quantidades necessárias para os cálculos, foram obtidas previamente (Yang e col., 2003; Chaibundit e col., 2000). Valores de dn/dc são muito similares para os blocos S, para distribuição envolvendo comprimento limitado ao bloco, por esta razão a correção para o índice de refração sem os copolímeros foi desnecessário (Mai e col., 1998; Mai e col., 2000).

As funções de correlação do DLS foram analisadas pelo método regularizado CONTIN (Provencher, 1979) para obter distribuições da razão de decaimento (T), portanto, coeficiente de difusão mútua aparente [$D_{app} = r/q^2$, $q = (4\pi n/l)\sin(q/2)$, $n =$ índice de refração do solvente, $l =$ comprimento de onda] e fundamentalmente o raio hidrodinâmico aparente ($r_{h,app}$, raio hidrodinamicamente equivalente à esfera rígida correspondente a D_{app}) através da equação de Stokes-Einstein :

$$r_{h,app} = kT/(6\pi\eta D_{app}) \quad (\text{Eq. 74})$$

onde k é a constante de Boltzmann e η é a viscosidade do solvente a temperatura T . Na prática, intensidades $I(r)$ dada pelo programa CONTIN em logaritmo dos valores de razão de decaimento foram transformada para $I(\log r) = I(r)$ para obter intensidade de distribuição por $\log(r)$ e portanto de $\log(r_{h,app})$. Normalização de $I(\log r_{h,app})$ forneceu a fração de distribuição de intensidade.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. ESPALHAMENTO DE LUZ ESTÁTICO (SLS)

Nas curvas de Debye $K^*c/S_{90}-S_{90,s}$ S_{90} é a intensidade da luz espalhada a 90° solução de copolímero em bloco em relação ao benzeno e $S_{90,s}$ é a intensidade da luz espalhada a 90° pelo solvente (água) em relação ao benzeno. As Figuras 18, 19 e 20 mostram as curvas de Debye para os copolímeros $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{102}S_9E_{102}$ e $E_{43}S_6$ em 25 e 40 °C, respectivamente. Conforme o esperado, as curvas mostram curvatura em concentrações mais altas devido a interações intermicelares. Da Equação 46, o coeficiente linear das curvas fornece o recíproco da massa molar média das micelas e a curvatura dá o valor do coeficiente de expansão termodinâmico δt . O número médio de associação pode ser calculado subsequentemente da equação seguinte:

$$N_w = M_w(\text{micela}) / M_w(\text{molécula}) \quad (\text{Eq. 75})$$

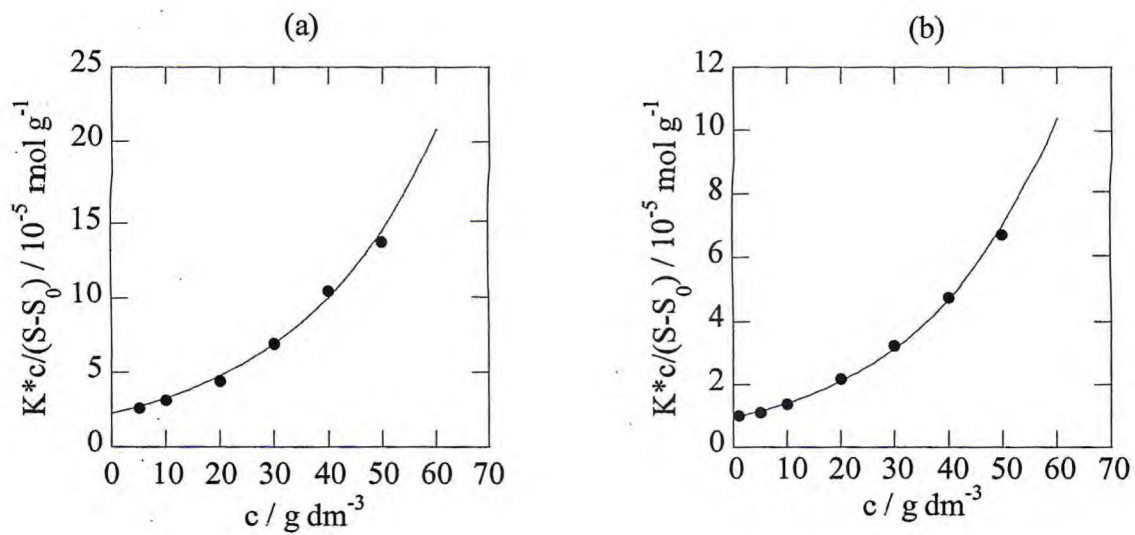


Figura 18. Curvas de Debye para o copolímero E₇₁S₅E₇₁ em (a) 25 °C e (b) 40°C.

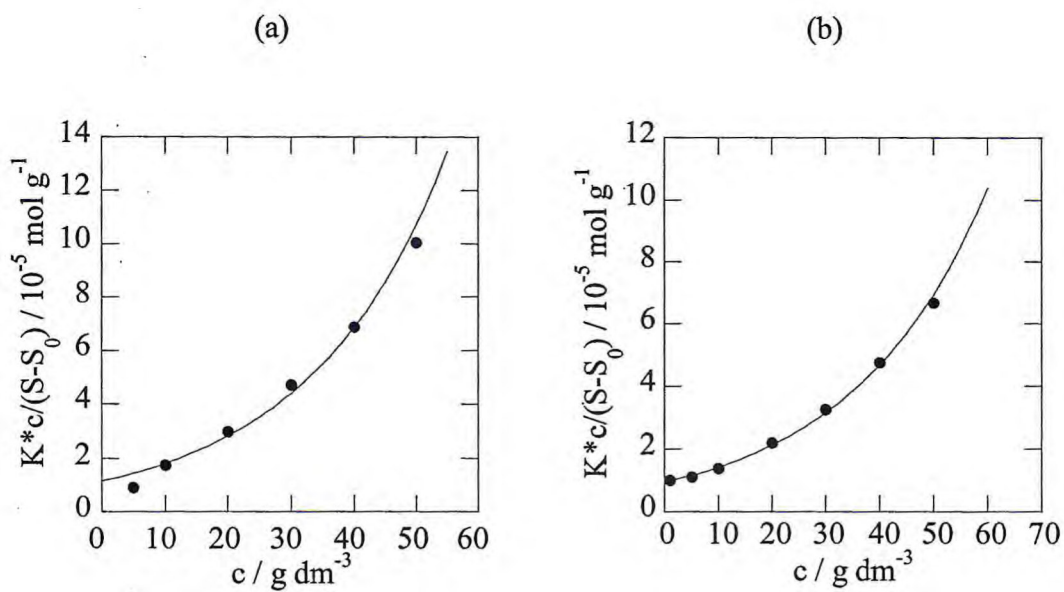


Figura 19. Curvas de Debye para o copolímero E₁₀₂S₉E₁₀₂ em (a) 25 °C e (b) 40°C.

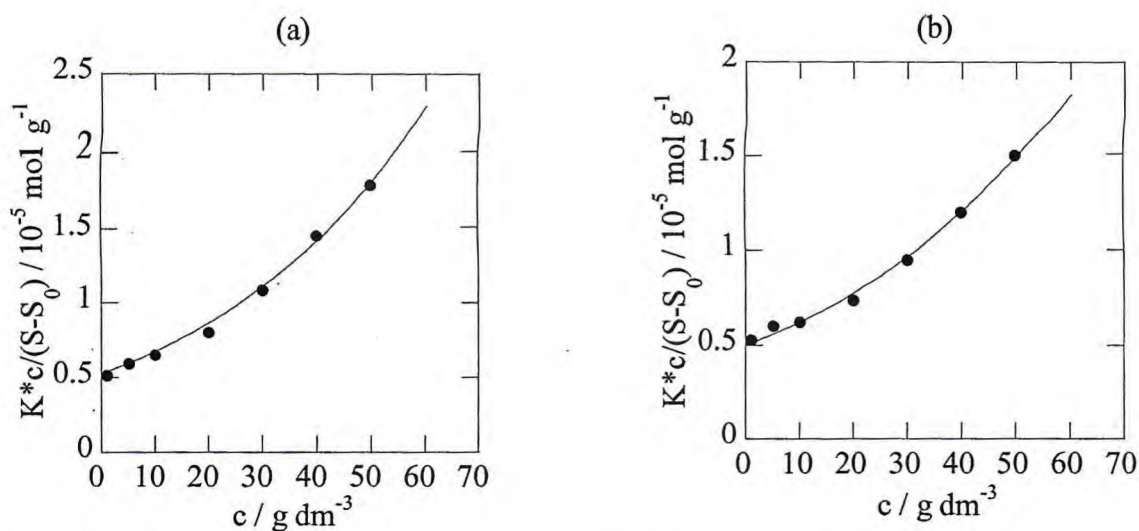


Figura 20. Curvas de Debye para o copolímero E₄₃S₆ em (a) 25 °C e (b) 40°C.

A Tabela 14 mostra os valores de massa molar média (M_w), o número de associação (N_w) e coeficiente de expansão termodinâmico (δt) para as micelas de copolímeros em bloco sintetizados neste trabalho (E₇₁S₇E₇₁, E₁₀₂S₉E₁₀₂ e E₄₃S₆) e outros relatados na literatura (E₆₅S₁₁E₆₅, E₆₆S₁₃E₆₆ e S₁₅E₆₃).

O copolímero dibloco E₄₃S₆ apresenta uma massa molar micelar de $1,90 \times 10^5$ g/mol, enquanto que o tribloco correspondente E₇₁S₅E₇₁ apresenta massa molar micelar de $0,44 \times 10^5$ g/mol, ou seja, a massa molar micelar do dibloco é cerca de quatro vezes maior do que a do tribloco correspondente. A diminuição da massa molar micelar para o tribloco é atribuída à conformação de laço que a cadeia do copolímero com esta arquitetura deve assumir quando da formação da micela (vide Figura 3), o que impõe restrições quanto ao número de moléculas de copolímero tribloco que podem formar a micela esférica. Observa-se também, um aumento nos valores de M_w para um dado copolímero e, dentro de uma mesma arquitetura de bloco, os valores de M_w aumentaram com o aumento do comprimento do bloco hidrofóbico (Yang e col., 2003; Ricardo, 2005).

Os valores de N_w aumentaram com o aumento da temperatura para um dado copolímero em bloco, uma vez que a água se torna um solvente mais pobre para os unímeros à medida que a temperatura aumenta e é consistente com o efeito da temperatura sobre as micelas de outros copolímeros em bloco desse tipo (Ricardo e col., 2005; Yang e col., 2003; Crothers e col., 2002).

Tabela 14. Características micelares de copolímeros triblocos (ESE) e diblocos (ES) em solução aquosa.

Copolímero	T (°C)	$M_w/10^5$ g/mol	N_w	δ_t	Referência
E ₇₁ S ₅ E ₇₁	25	0,44	6	5,35	Este trabalho
	40	1,05	10	4,42	
E ₁₀₂ S ₉ E ₁₀₂	25	0,87	8	6,47	Este trabalho
	40	1,05	10	5,70	
E ₆₅ S ₁₁ E ₆₅	25	1,42	19	3,60	Crothers, M.E.D., Tese de Doutorado, 2003
	40	1,52	21	3,35	
E ₆₆ S ₁₃ E ₆₆	25	1,64	25	4,05	Crothers, M.E.D., Tese de Doutorado, 2003
	40	1,84	27	3,75	
E ₄₃ S ₆	25	1,9	72	3,55	Este trabalho
	40	2,0	76	3,10	
E ₄₅ S ₁₀	25	3,4	103	2,3	Crothers e col., 2002
	40	3,6	109	2,4	
S ₁₅ E ₆₃	25	6,71	140	4,61	Crothers, M.E.D., Tese de Doutorado, 2003
	40	7,01	146	4,23	

3.3.2. ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (DLS)

Todos os dados de espalhamento de luz dinâmico foram analisados através do programa CONTIN, conforme mencionado anteriormente. Este método fornece informação sobre a distribuição de taxas de decaimento na forma de uma decadência constante característica Γ , que por sua vez, fornece uma distribuição de coeficientes de difusão aparentes (D_{app}). A Equação de Stokes-Einstein relação (Equação 74) então permite a conversão de valores de D_{app} para os valores de raio hidrodinâmico aparente $r_{h,app}$.

A Figura 21 mostra os gráficos do recíproco do rádio hidrodinâmico aparente versus concentração. A extrapolação das curvas para concentração micelar zero fornece os valores de r_h .

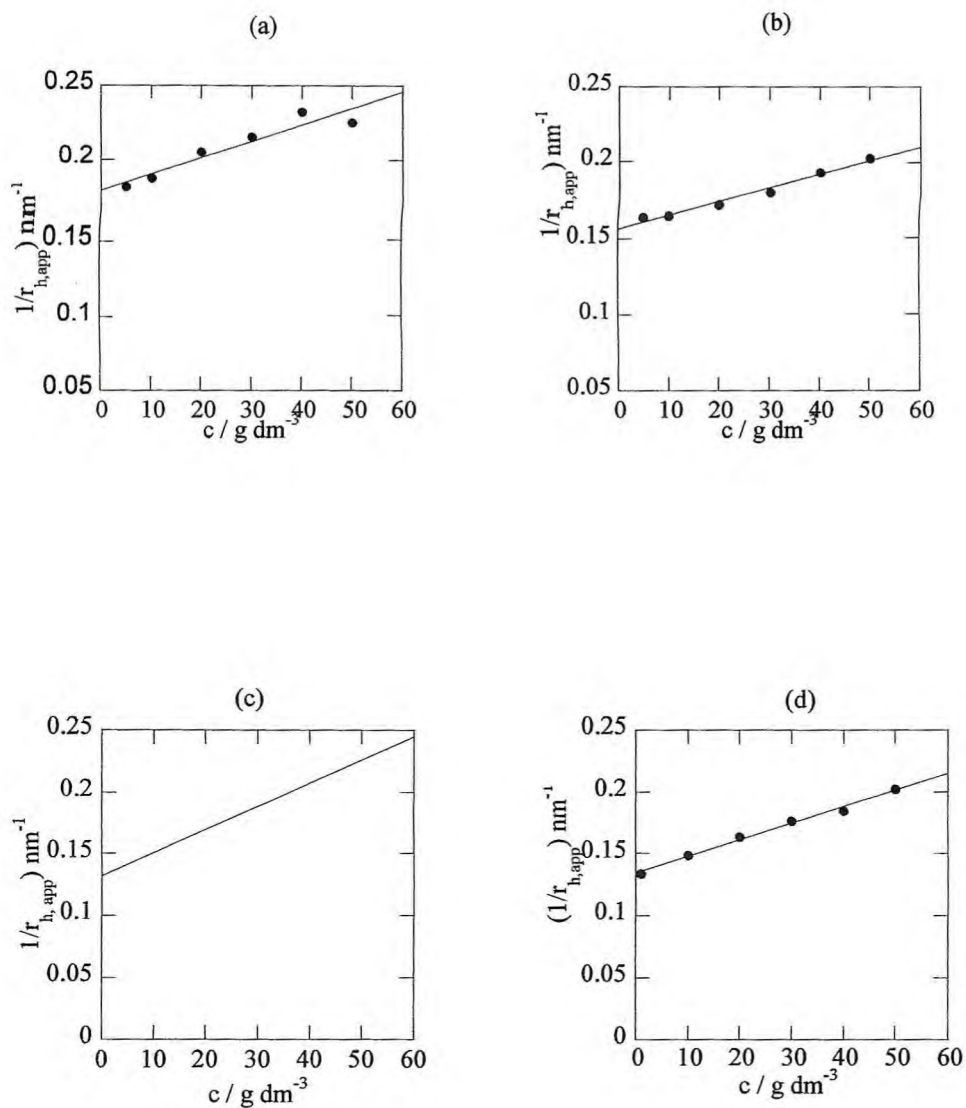


Figura 21. Recíproco do raio hidrodinâmico *versus* concentração das soluções aquosas micelares dos copolímeros (a) $E_{71}S_5E_{71}$, (b) $E_{61}S_7E_{61}$, (c) $E_{70}S_9E_{70}$ e (d) $E_{102}S_9E_{102}$ em 25 °C.

A Tabela 15 mostra os valores de raio hidrodinâmico (r_h) para copolímeros em bloco sintetizados neste trabalho ($E_{71}S_5E_{71}$, $E_{71}S_7E_{71}$, $E_{71}S_5E_{71}$ e $E_{102}S_9E_{102}$) e outros relatados na literatura ($E_{65}S_{11}E_{65}$, $E_{66}S_{13}E_{66}$ e $E_{67}S_{15}E_{67}$).

Tabela 15. Valores de raios hidrodinâmicos (r_h) de copolímeros triblocos (ESE) e diblocos (ES) em solução aquosa.

Copolímero	T (°C)	r_h /nm	Referência
E ₇₁ S ₅ E ₇₁	25	5,5	Este trabalho
	40	5,7	
E ₆₁ S ₇ E ₆₁	25	6,4	Este trabalho
	40	6,6	
E ₇₀ S ₉ E ₇₀	25	7,6	Este trabalho
	40	7,7	
E ₁₀₂ S ₉ E ₁₀₂	25	7,4	Este trabalho
	40	7,5	
E ₆₅ S ₁₁ E ₆₅	25	7,7	Crothers, M.E.D., Tese de Doutorado, 2003
	40	7,8	
E ₆₆ S ₁₃ E ₆₆	25	8,1	Crothers, M.E.D., Tese de Doutorado, 2003
	40	8,3	
E ₆₇ S ₁₅ E ₆₇	25	8,3	Crothers, M.E.D., Tese de Doutorado, 2003
	40	8,8	

Os valores obtidos para os raios hidrodinâmicos dos copolímeros E₇₁S₅E₇₁, E₆₁S₇E₆₁, E₇₀S₉E₇₀ e E₁₀₂S₉E₁₀₂ em 25 °C foram, respectivamente, 5,5; 6,4; 7,6 e 7,4 nm. Os valores obtidos para os raios hidrodinâmicos desses copolímeros em 40 °C (5,7; 6,6; 7,7 e 7,5 nm) não variaram significativamente com o aumento da temperatura para o mesmo copolímero, o que foi observado também para os copolímeros E₆₅S₁₁E₆₅, E₆₆S₁₃E₆₆ e E₆₇S₁₅E₆₇. A observação de que o r_h é independente da temperatura é comum nesse tipo de estudo e pode ser explicada como uma compensação entre um aumento no número de associação e um decréscimo na expansão da “corona” dos blocos terminais E, à medida que o solvente se torna mais pobre com o aumento da temperatura (Crothers, 2003; Yang e col., 2003; Crothers e col., 2002; Booth e Atwood, 2000). Essa análise depende de que o tamanho da micela seja independente da concentração em qualquer temperatura, conforme descrito por Linse (1993).

4. REOLOGIA

4.1. REOLOGIA

O termo "Rheologia" foi introduzido por Bingham e foi oficialmente adotado em 1929 quando a "American Society of Rheology". Reologia é definida como a ciência da deformação e fluxo da matéria e está relacionada com o estudo da resposta interna de corpos reais a tensões externas. Neste contexto, corpos podem ser sólidos, líquidos ou gases. Ela diz respeito principalmente ao fenômeno de fluxo irreversível, assim como outros casos de deformação que podem ou não conduzir a uma alteração permanente da posição de elementos de um material. (Ferguson, e Kemblowski,, 1991; Barnes e col., 1989; Rohn, 1995).

Os conceitos de elasticidade e viscosidade precisam ser discutidos neste ponto, uma vez que materiais reais podem apresentar uma propriedade ou outra, ou uma combinação de ambas, simultaneamente. Desse modo, os materiais podem ser classificados em três tipos: elásticos, viscosos e viscoelásticos. O comportamento reológico mais simples é exibido por sólidos e fluidos ideais.

Sólidos ideais se deformam elasticamente. Neste caso, a energia é armazenada durante a deformação e pode ser recuperada quando a tensão é removida, de modo que o material retorna à sua forma original (Schramm, 2006). Em um sólido rígido sofrendo uma deformação decorrente da aplicação de uma tensão externa, ocorre o alongamento das ligações intermoleculares nos sólidos e a tensão interna resultante equilibra a tensão externa. Assim, é estabelecida uma deformação de equilíbrio. Este processo é muito rápido; as ligações podem ser alongadas muito rapidamente e pode-se supor que este equilíbrio é estabelecido em um tempo infinitamente curto. A lei de Hooke pode descrever as propriedades reológicas desses materiais. Segundo essa lei, o estresse é diretamente proporcional à deformação e não é dependente do tempo. No entanto, existem materiais elásticos que não obedecem à lei de Hooke e que exibem uma dependência não-linear entre tensão e deformação.

Fluidos ideais deformam-se irreversivelmente sobre a aplicação de uma tensão, isto é, eles fluem ou apresentam "fluxo viscoso". A energia requerida para a deformação é dissipada sob a forma de calor e não pode ser recuperada pela remoção da tensão; o material continua a se deformar enquanto ocorrer a aplicação da tensão. O fluido deforma sob a menor tensão, devido à grande mobilidade das moléculas, mas as forças de atrito

interno retardam a taxa de deformação e conduzem a um estado de equilíbrio em que uma tensão externa constante leva a uma taxa constante de deformação. Esse comportamento é chamado de "fluxo viscoso" e é característica de líquidos simples. As propriedades reológicas deste tipo de fluido podem ser descritas pela lei de Newton, segundo a qual a tensão é diretamente proporcional à taxa de deformação e não depende da deformação em si. Existem, no entanto, fluidos viscosos que não obedecem à lei de Newton e não apresentam dependência linear entre tensão e taxa de deformação, pois eles são chamados de fluidos não-Newtonianos.

O termo viscoelástico é utilizado para descrever o comportamento de um corpo que possui propriedades de um sólido ideal (elástico) e um líquido ideal (newtoniano), ou seja, uma parte da energia é perdida e outra é dissipada, sendo o comportamento dependente do tempo. Este comportamento é exibido por materiais mais complexos e, a rigor, podem ser chamados de "sólidos viscoelásticos", isto é, sólidos elásticos que, durante a deformação, apresentam comportamento viscoso resultante de dissipação de energia ou "fluidos elasticoviscosos", isto é, fluidos viscosos que apresentam comportamento elástico. No entanto, não há distinção nítida entre as duas categorias.

O comportamento reológico de materiais relaciona-se com a escala de tempo através do número de Deborah (De) (Schramm, 2006):

$$De = \tau / t \quad (\text{Eq. 76})$$

onde τ é o tempo de relaxamento característico do sistema e t é escala de tempo de experimento. O tempo τ é infinito para um sólido ideal, e zero para um líquido ideal. Muitos fluidos viscoelásticos têm De da ordem de unidade.

A resposta particular de um material à aplicação de uma força depende da escala de tempo envolvida. Um material pode, portanto, apresentar-se como sólido porque tem um alto valor de τ ou porque a escala de tempo do processo é relativamente menor do que τ . Ao contrário, um material pode apresentar-se como líquido deformado se for submetido a uma tensão durante intervalos de tempo muito maiores do que τ .

4.1.1. FLUIDOS NEWTONIANOS

Fluidos ideais são conhecidos como fluidos Newtonianos. Consideremos duas placas paralelas de área A , separadas por uma distância d (Fig. 22). Uma força de cisalhamento, F , é aplicada ao longo do eixo x sobre a placa superior, que é mantida em velocidade constante, V , enquanto a placa inferior permanece estacionária. A força por unidade de área requerida para produzir o movimento, F/A , é denotada σ e é proporcional ao gradiente de velocidade ou taxa de cisalhamento, γ (V/d). A constante de proporcionalidade é a viscosidade (η_0), isto é:

$$\eta_0 = \sigma / \gamma \quad (\text{Eq. 77})$$

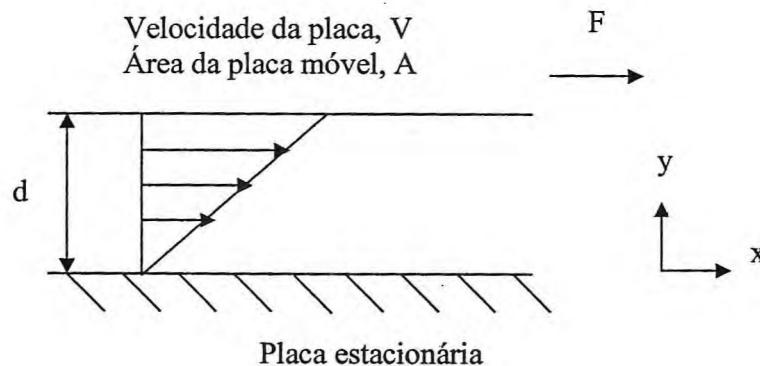


Figura 22. Deformação de um fluido Newtoniano.

Para um fluido Newtoniano, a viscosidade é uma constante independente da taxa de cisalhamento. A viscosidade de fluidos Newtonianos diminui com o aumento da temperatura de acordo com a equação de Arrhenius:

$$\eta_0 = A \exp^{-E/RT} \quad (\text{Eq. 78})$$

onde T é a temperatura, A é uma constante, R é a constante dos gases e E é a energia de ativação para fluidos viscosos. Em geral, para um fluido Newtoniano, o aumento da viscosidade é fortemente dependente da temperatura.

Sólidos ideais são conhecidos como sólidos elásticos de Hooke. De acordo com a lei de Hooke, a tensão de cisalhamento (σ) é diretamente proporcional a taxa de cisalhamento (γ):

$$\sigma = G_0 \gamma \quad (\text{Eq. 79})$$

onde G_0 é o módulo de cisalhamento do material.

4.1.2. FLUIDOS NÃO-NEWTONIANOS

O comportamento não-newtoniano é exibido por fluidos de estrutura interna complexa, como soluções de polímeros e polímeros fundidos, e vários meios dispersos como pastas, polpas, emulsões e suspensões de fibras, etc. A principal característica desses sistemas é que eles contêm partículas suspensas ou moléculas dissolvidas que são grandes em comparação com a dimensão típica das moléculas do fluido.

A viscosidade de um fluido newtoniano é constante, independentemente da tensão de cisalhamento aplicada e é independente do tempo. No entanto, fluidos reais não apresentam esse comportamento e possuem viscosidades aparentes (η_{app}), que são as viscosidades do fluido em determinadas taxas de cisalhamento.

Há duas classes de fluidos não-newtonianos: os fluidos independentes do tempo e os fluidos dependentes do tempo:

(i) Fluidos independentes do tempo

(a) Pseudoplástico

Fluidos que sofrem diminuição da viscosidade quando a taxa de cisalhamento aumenta são chamados de pseudoplásticos. Diversas substâncias como emulsões, suspensões ou dispersões de alta importância técnica e comercial pertencem a esse grupo. Esse comportamento é consequência: (i) da orientação de moléculas ou partículas na

direção do fluxo aplicado; ou (ii) desembaraçamento de partículas ou moléculas agregadas; ou (iii) a retirada de solvente, diminuindo as interações intermoleculares e assim moléculas ou partículas se moverão com maior facilidade resultando na diminuição da viscosidade.

(b) Dilatante

O termo dilatante refere-se ao fenômeno do aumento da viscosidade com aumento da taxa de cisalhamento. Esta tendência é consistente com a presença de partículas de sólidos num líquido. Se o cisalhamento aumenta, as partículas são mais aproximadas para uma mesma região. O efeito total é a redução do movimento livre do fluido e todo o sistema torna-se mais resistente ao cisalhamento.

A equação de Ostwald-de Waele é usada para representar os dois tipos de comportamentos discutidos (pseudoplástico e dilatante):

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad (\text{Eq. 80})$$

onde K é uma constante e n é a potência da taxa de cisalhamento do material. Para um material pseudoplástico, $0 < n < 1$ e para material dilatante, $n > 1$.

(c) Plástico de Bingham

Alguns materiais não fluem até que uma tensão crítica de cisalhamento seja atingida. Se um material comporta-se como um fluido Newtoniano após o valor crítico, ele é conhecido como um fluido plástico ideal de Bingham, obedecendo a equação:

$$\sigma = \sigma_0 + \eta_0 \dot{\gamma} \quad (\text{Eq. 81})$$

onde η_0 é a viscosidade e σ_0 é o valor crítico de Bingham (a taxa de cisalhamento zero).

Os fluidos plásticos podem ser classificados tanto como líquidos quanto como sólidos. Eles são, na maioria das vezes, dispersões que em repouso podem formar uma rede intermolecular/interpartículas mantida por forças de van der Waals. Essas forças restringem mudanças de posição de elementos de volume e dão à substância um caráter sólido com uma viscosidade extremamente alta (Schramm, 2006).

Para um fluido de Bingham é chamado de σ_0 , quando $\sigma > \sigma_0$, a estrutura pode entrar em colapso rapidamente produzindo um fluido Newtoniano (fluido ideal de Bingham). No entanto, normalmente a mudança é progressiva e o resultado é a diminuição da viscosidade com aumento da taxa de cisalhamento (fluido de Bingham não ideal).

O modelo mais simples usado para todos os sistemas já discutidos é o modelo Herschel-Bulkley, o qual incorpora os elementos dos três modelos (Newtoniano, Ostwald-de Waele e Bingham):

$$\sigma = \sigma_0 + K\dot{\gamma}^n \quad (\text{Eq. 82})$$

onde K é o índice de consistência, σ_0 e n são parâmetros que variam com o tipo de fluxo. Os vários comportamentos podem ser resumidos como: Newtoniano: $\sigma_0 = 0$ e $n = 1$; Pseudoplástico: $\sigma_0 = 0$ e $0 < n < 1$; Dilatante: $\sigma_0 = 0$ e $n > 1$; Fluido ideal de Bingham: $\sigma_0 > 0$ e $n = 1$; Fluido não-ideal de Bingham: $\sigma_0 > 0$ e $n \neq 1$. A Figura 23 mostra uma representação dos fluidos discutidos acima.

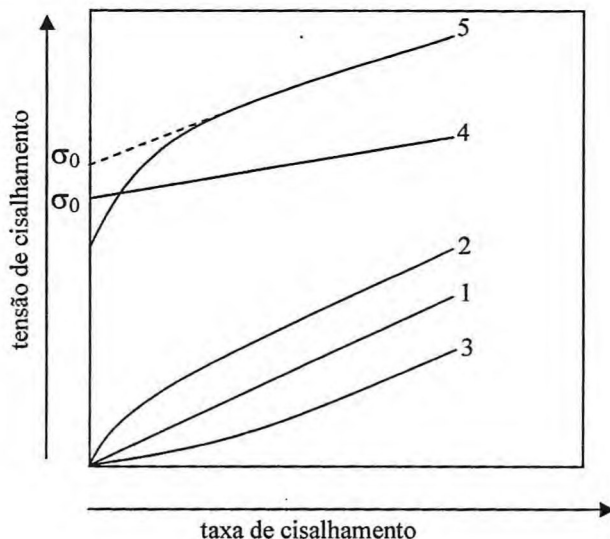


Figura 23. Representação esquemática da variação da tensão de cisalhamento com a taxa de cisalhamento indicando diferentes tipos de comportamento reológico: (1) Newtoniano; (2) Pseudoplástico; (3) Dilatante; (4) Plástico Ideal de Bingham; (5) Plástico de Bingham não-ideal (σ_0 é o valor crítico de Bingham).

(ii) Fluidos dependentes do tempo

(a) Tixotrópico e Reopético

Se a escala de tempo na qual as medidas são realizadas é suficientemente pequena, podem ser observadas mudanças na viscosidade em função de tempo, enquanto a taxa de cisalhamento é constante. Os sistemas descritos anteriormente podem ser considerados como de comportamento de estado estacionário, atingido depois que o sistema tem um tempo suficiente para relaxar (isto é, para estabelecer uma estrutura na resposta da tensão de cisalhamento). Alguns sistemas mostram uma diminuição gradual, outros, um aumento na viscosidade com o tempo, numa taxa de cisalhamento fixa. Essas tendências de comportamento são chamadas de tixotropia e reopético, respectivamente.

4.1.3. VISCOELASTICIDADE LINEAR

A teoria da viscoelasticidade linear é baseada no princípio da sobreposição. Isto implica que a resposta de um material viscoelástico é uma função somente do tempo para todas as magnitudes de tensão e deformação. Nesse regime as propriedades reológicas dos materiais podem ser descritas por modelos mecânicos os quais, ao menos qualitativamente, comportam-se de maneira análoga. Os elementos básicos de um modelo mecânico são uma mola elástica para representar a Lei de Hooke e uma bola, a qual obedece a Lei de Newton (pistão movendo-se no óleo). O modelo mecânico mais simples semelhante para um corpo viscoelástico é uma mola com bolas em série (unidade de Maxwell). O elemento mola é designado para um módulo de cisalhamento análogo G_0 e a bola representa a viscosidade, η_0 . Quando um certo cisalhamento (ρ) é aplicado, a mola estica-se instantaneamente, enquanto a bola alongada estende-se na razão ρ/η_0 . A deformação total é a soma da deformação elástica (γ_H) e a deformação viscosa (γ_N)

$$\gamma = \gamma_H + \gamma_N \quad (\text{Eq. 83})$$

Quando, o processo de deformação cessa, o módulo de Maxwell relaxa com uma constante de tempo (τ), a qual é determinada pela razão da viscosidade (η_0) e módulo elástico (G_0):

$$\tau = \eta_0/\dot{G}_0 \quad (\text{Eq. 84})$$

Se um material é submetido a uma variação de tensão, uma variação de deformação senoidal será produzida. No caso de um sólido ideal a resposta da deformação será em fase com a tensão aplicada, enquanto no caso de um líquido ideal a deformação será $\pi/2$ fora de fase com a tensão. Para um material viscoelástico a diferença de fase entre a tensão e a distensão seria entre 0 e 90° .

A variação da tensão e da deformação com o tempo é dada por expressões do tipo:

$$\sigma = \sigma_0 \text{sen}(\omega t + \delta) \quad (\text{Eq. 85})$$

$$\gamma = \gamma_0 \text{sen} \omega t, \quad (\text{Eq. 86})$$

onde δ é o ângulo de fase, isto é, o lugar angular relativo de tensão e deformação; σ_0 e γ_0 são as amplitudes de tensão e deformação, respectivamente. A equação para tensão pode ser expandida para:

$$\sigma = \sigma_0 \text{sen} \omega t \cos \delta + \sigma_0 \cos \omega t \text{sen} \delta \quad (\text{Eq. 87})$$

A tensão pode, portanto, ser considerada como sendo resolvido para duas componentes: uma $\sigma_0 \cos \delta$, a qual está em fase com a deformação e outra $\sigma_0 \text{sen} \delta$, a qual é $\pi/2$ fora de fase com a deformação. É possível definir dois módulos dinâmicos: G' , o qual está em fase com a deformação e G'' , o qual está $\pi/2$ fora de fase com a deformação.

$$G' = (\sigma_0/\gamma_0) \cos \delta \quad (\text{Eq. 88})$$

e

$$G'' = (\sigma_0/\gamma_0) \text{sen} \delta \quad (\text{Eq. 89})$$

Então,

$$\sigma = \gamma_0 G' \text{sen} \omega t + \gamma_0 G'' \cos \omega t \delta \quad (\text{Eq. 90})$$

O ângulo de fase δ é dado por:

$$\operatorname{tg} \delta = G''/G' \quad (\text{Eq. 91})$$

O ângulo de fase (δ) é um outro parâmetro na investigação do comportamento viscoelástico de um material. Este sempre aparece nas equações senoidais da deformação elástica. Os ângulos de mudança de fase dos materiais viscoelásticos se situam entre $0 < \delta < 90^\circ$. Por questões de simplicidade, o resultado obtido é registrado sob forma da tangente do ângulo de perda, $\tan(\delta)$, também chamada de fricção interna ou amortecimento, que é a razão entre a energia dissipada e a energia potencial armazenada por ciclo. O módulo complexo G^* é a razão entre a tensão e a deformação:

$$G^* = \sigma/\gamma \quad (\text{Eq. 92})$$

onde $G^* = G' + iG''$. O módulo complexo é formado por uma parte real e outra imaginária que engloba as suas componentes viscosa e elástica. G' é o módulo de armazenamento ou de rigidez dinâmica que indica a parcela equivalente de energia proveniente da tensão aplicada. Ela é temporariamente armazenada durante o teste, mas que pode ser recuperada posteriormente. G'' , o módulo de cisalhamento ou de perda, indica a parcela de energia que foi utilizada para iniciar o escoamento e transferida irreversivelmente sob a forma de calor.

Os resultados experimentais de G^* e δ , dentro de um intervalo de frequência, fornecem curvas reológicas que informam a respeito da viscoelasticidade do material.

4.2. EXPERIMENTAL

4.2.1 MISTURAS BINÁRIAS DOS COPOLÍMEROS

A mistura dos copolímeros $E_{71}S_{19}E_{71}$ (S19) e $E_{98}P_{67}E_{98}$ (F127) foi preparada na proporção 70/30% (m/m) do S18 (50 a 90 %m/m) em concentrações variando de 18 a 25 % (m/m). A maior proporção do copolímero mais hidrofóbico visa a obter o máximo de solubilização do fármaco, enquanto que o copolímero F87 foi utilizado no intuito de

conferir à mistura suas características de formação de gel, com a menor proporção dele na mistura (visualizado através do diagrama de fase). Assim, em tubos de diâmetro interno de 10 mm foram preparados as misturas nas proporções citadas de massa total de 0,5 g nas concentrações desejadas. Por exemplo, para obtenção de uma mistura de S18/F87 60/40 a 25 % (m/m) é necessário o seguinte cálculo:

$$\left. \begin{array}{l} 25 \text{ g} \rightarrow 100 \text{ g} \\ x \leftarrow 0,5 \text{ g} \end{array} \right\} x = 0,125 \text{ g (125 mg)}$$

$$0,125 \text{ g} \cdot 0,7 \text{ S19 (70\% S19)} = 0,0875 \text{ g (87,5 mg de S19)}$$

$$0,125 \text{ g} \cdot 0,3 \text{ F127 (30\% F127)} = 0,0375 \text{ g (37,5 mg) de F127}$$

$$m_{\text{H}_2\text{O}} = 0,5 - 0,125 = 0,375 \text{ g (375 mg de água milli-Q)}$$

Como demonstrado acima, primeiramente se encontra a massa que corresponde a 30 % da massa total utilizada no frasco (0,5 g). Em seguida, multiplica-se a massa total de amostra encontrada pela proporção de cada copolímero na mistura e assim obtém-se a massa a ser pesada de cada um. A massa de água é a diferença entre a massa total (0,5 g) e a massa de amostra pesada (0,125 g, por exemplo).

4.2.2. DIAGRAMA DE FASE

O diagrama de fase foi obtido pelo método de inversão de tubo. As soluções dos copolímeros e das misturas foram preparadas em tubos apropriados, misturando sempre que possível e deixando por vários dias (~5 a 10 dias) em repouso sob refrigeração até atingir o equilíbrio.

A mobilidade das soluções foi determinada usando o teste de inversão de tubo. As misturas em diferentes concentrações (1 a 50 %m/m) preparadas (0,5 g) foram colocadas em tubos pequenos (diâmetro interno de 10 mm), e foi observada a possível modificação, enquanto lentamente aquecidas (5 – 90 °C) num banho de água termostaticado (± 1 °C). A velocidade de aquecimento foi de $\pm 1^\circ \text{ min}^{-1}$. A inversão de tubo serve para identificar as diferentes fases do sistema (diagrama de fases).

A reprodutibilidade foi de ± 2 °C para as temperaturas de transição fluido/gel e ± 4 °C para as temperaturas de transição gel/fluido.

4.2.3. ESTUDO REOLÓGICO

Soluções da mistura S19/F127 70/30 % (m/m) em concentrações de 18 a 25% (m/m) foram preparadas em tubos com tampas, misturados nas temperaturas em que as soluções eram fluidas, permitindo o equilíbrio sob refrigeração por alguns dias.

A temperatura e a frequência dependentes do módulo foram determinadas para as soluções preparadas da mistura S19/F127 70/30 % (m/m), através de medidas em um Reômetro de Deformação Controlada TA ARES com banho de temperatura controlável e geometria "Cone and Plate" (25 ou 50 mm de diâmetro). As amostras (2,5 cm³) foram adicionadas à geometria no estado fluido. A amplitude da tensão ajustada para baixos valores ($A = 0,5\%$), de modo que o estudo na região de viscoelasticidade linear.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. DIAGRAMA DE FASE

Os limites para formação de géis rígidos para os copolímeros foram estabelecidos em trabalhos anteriores (Yang e col., 2003a; Harrison e col., 2005) principalmente por inversão de tubo e confirmados por reologia.

Os géis dos copolímeros F127 possuem temperatura limite baixa. A temperatura de transição de fluido/gel em uma solução 35% m/m é 30°C, uma temperatura de transição de geleificação apropriada para aplicação farmacêutica (Figura 24).

Os resultados obtidos por inversão de tubo para os copolímeros e suas misturas encontram-se na Figura 25. É possível observar que os géis dos copolímeros S19 são formados em concentrações próximas a 17 % m/m e em concentrações elevadas são estáveis em altas temperaturas (90°C). Tais resultados são similares àqueles obtidos para o copolímero E₁₃₇S₁₈E₁₃₇ em concentrações de 15% (m/m) (Pinho, M.E.N., 2006). O valor de cmc para o S19 é muito menor o que para o F127 por extrapolação dos dados de outros copolímeros do tipo E_mS_nE_m (Crothers e col., 2005).

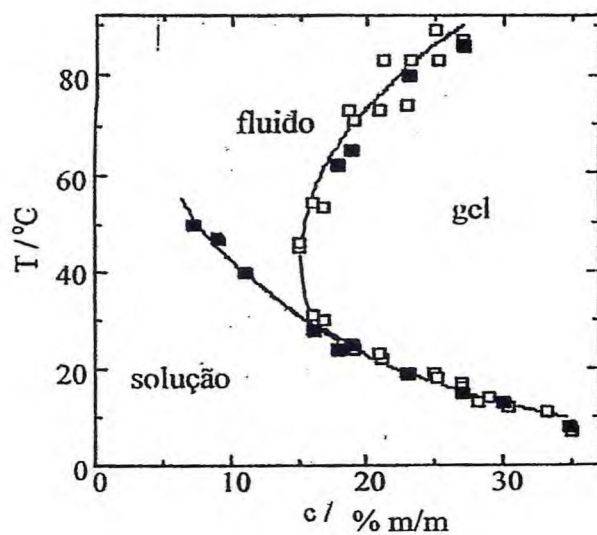


Figura 24. Diagrama de gel das soluções aquosas do $E_{98}S_{67}E_{98}$ (F127), $E_{62}P_{39}E_{62}$: (□) inversão de tubo, (■) reologia.

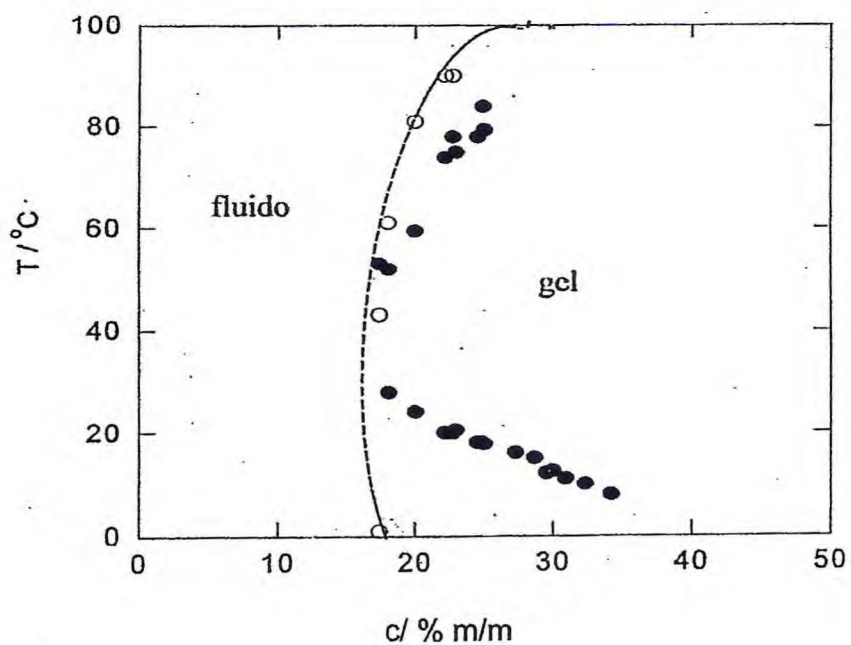


Figura 25. Diagrama de gel das soluções aquosas: S19 (curva tracejada) e mistura S19/F127 70/30 % (m/m) (●).

Assim, ocorre a formação de gel, em baixas temperaturas e concentrações, mas não se observa um limite de formação de gel como para o F127, característica essa atribuída a estabilidade das micelas desses copolímeros em água em baixas temperaturas (Taboada e col., 2005). Yang e col. (2003) relatam que é característico de géis rígidos de copolímeros triblocos do tipo ESE um aumento na estabilidade térmica com o aumento da concentração.

Em toda faixa de concentração foi verificado que o limite de formação de gel a frio da mistura S19/F127 70/30 % (m/m) é similar àquele das soluções contendo somente F127. Isto é consistente com o copolímero S19 completamente micelizado em baixa temperatura. A formação de uma mesofase com comportamento micelar organizado (gel) é determinada pelo grau de micelização do F127, o qual aumenta com a temperatura, conforme foi relatado para mistura de F87 com E₄₅B₁₄E₄₅ (Harrison e col., 2005). Esse estado gel é encontrado quando a proporção de F87 micelizado no aquecimento é suficiente para aumentar a fração do volume micelar na solução para um valor no qual eles empacotam formando gel. Nesse estudo a proporção mínima de F87 utilizado visando tal fenômeno foi de 10 %.

Vários trabalhos relatam que uma distribuição simples (ou única) para micelas é formada quando blocos hidrofóbicos de copolímeros têm hidrofobicidade semelhantes; do contrário, duas distribuições de micelas são formadas (Liu e col., 1999; Harrison e col., 2005; Ricardo e col., 2006).

Géis rígidos cúbicos são formados por micelas esféricas (ou próximas da forma esférica) quando a fração de volume efetivo (ϕ_{eff}) excede um valor crítico para o empacotamento. Com o aumento da temperatura, os limites superior e inferior estão associados com o coeficiente negativo de solubilidade dos copoli(oxialquileno)s em água. O limite inferior ocorre com o aumento na extensão de micelização do copolímero (nesse caso, F127) e o limite superior ocorre pelo decréscimo de ϕ_{eff} na densidade numérica constante de micelas causadas pela contração dos blocos E, via “corona” micelar, pois o solvente torna-se pobre para o bloco E em altas temperaturas. Comportamento semelhante foi observado em sistemas triblocos E/P e E/B (Harrison e col., 2005; Hamley e col., 2001).

A temperatura do limite superior (transição gel/fluido) da mistura S19/F127 70/30 % (m/m) não é obtida com erro menor do que ± 3 °C. Como os experimentos foram feitos em triplicada, ficou claro que o limite superior é sensível à história térmica dos copolímeros

constituintes. Acredita-se que tal fenômeno seja consequência da dependência da concentração micelar crítica (cmc) com a temperatura.

4.3.2. ESTUDO REOLÓGICO

O efeito da temperatura no módulo de armazenamento ou elástico (G') medido a frequência (f) de 1Hz para a mistura S19/F127 70/30 % (m/m) nas concentrações de 18, 21 e 25 % (m/m) encontram-se na Figura 26.

A dependência do módulo G' com a temperatura serve para definir e confirmar o limite inferior de gel obtido pelo diagrama de fase. O aumento restrito da temperatura com significativo aumento do módulo de armazenamento (G') corresponde ao limite fluido-gel definido por inversão de tubo como citado por Chaibundit e col. (2005). A temperatura na qual G' aumenta bruscamente, com valores superiores aos valores de G'' (módulo de perda ou viscoso), caracteriza o início da região de gel para esse sistema em estudo e para outros sistemas de copolímeros similares (Harrison e col., 2005; Kelarakis e col., 2001).

Em geral, uma solução apresenta valores de $G'' > G'$, sendo $G' < 1\text{Pa}$. Gel fluido é obtido quando $G' > G''$, com valores de G' de 10-600 Pa e gel rígido é obtido quando a condição de $G' > G''$ onde $G' \geq 3\text{KPa}$. Observa-se na Figura 25 que os valores de G' para as concentrações de 18 e 21% (m/m) da mistura S19/F127 70/30 % (m/m) foram de aproximadamente 1,2 Pa e 1,8 kPa, característicos de um gel fluido. A concentração de 18% apresentou-se fluida no teste de inversão de tubo (Figura 24), mas com módulo de armazenamento (medido a 1 Hz) significativamente acima do nível característico de solução (isto é $G' > 10\text{ Pa}$) com $G' > G''$, implicando numa classificação de gel fluido já relatado por Hvidt e col. (1994) e Hamley e col. (2001). Yang e col. (2003) relatam resultados similares para copolímeros triblocos do tipo ESE ($E_{66}S_{13}E_{66}$ e $E_{142}S_{19}E_{142}$).

Li e col. (1997 e 2003) relatam que géis fluidos detectados a baixas concentrações, como 18% (m/m), por exemplo, são resultantes de uma menor atração entre as micelas esféricas e o solvente. A transição ocorre quando os agregados das micelas esféricas se estendem numa estrutura que causa o efeito reológico característico ($G' > G''$).

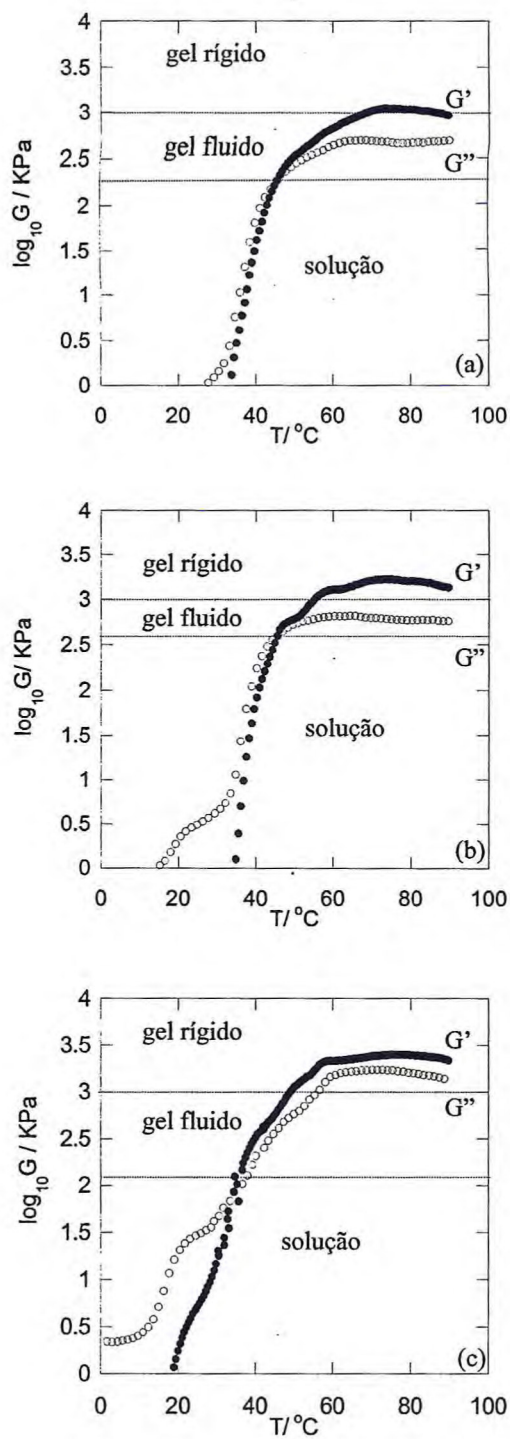


Figura 26. Dependência da temperatura do logaritmo dos módulos G' e G'' das soluções aquosas da mistura S19/F127 70/30 (m/m) nas concentrações: (a) 18, (b) 21 e (c) 25 (%m/m).

Na concentração de 21% (m/m), o gel apresentou-se rígido no teste de inversão de tubo. Conforme Harrison e col. (2005) relatam que géis fluidos em concentrações e temperaturas próximas ao limite de gel rígido são designados como versões defeituosas de géis rígidos de empacotamento cúbico, isto é, domínio de estrutura pequena numa matriz totalmente fluida.

O valor de G' para as concentrações de 25% (m/m) da mistura S19/F127 70/30 (m/m) é de aproximadamente 2,6 kPa. Tal valor de G' são característicos de géis rígidos que apresentam micelas esféricas empacotadas em forma cúbica, quando $G' > 1$ KPa, como relatado para copolímeros diblocos (Li e col., 1997; Hamley e col., 2001) e copolímeros triblocos ESE (Yang e col., 2003). Entretanto, géis de concentração e temperatura dentro da região de gel apresentam valores mais altos sob essas mesmas condições ($f = 1$ Hz e $A = 0,5\%$). Por exemplo, para a solução da mistura S18/F87 50/50 % (m/m) a 40 % e 40 °C, $G' = 17$ kPa (Ricardo e col., 2005), valor esse muito menor do que o encontrado para soluções de F87 ($G' = 25$ kPa, para uma solução a 30% e 40 °C), mas todos são consistentes com géis rígidos de alta tensão crítica (Harrison e col., 2005).

5. ESTUDOS DE SOLUBILIZAÇÃO

5. ESTUDOS DE SOLUBILIZAÇÃO

5.1. REAGENTES E MATERIAIS

Fármacos

O fármaco griseofulvina foi obtido da Aldrich Chemical e os fármacos rutina e quercetina foram gentilmente cedidos pela empresa Flora Brasil – Produtos naturais Ltda e utilizados sem posterior purificação.

Copolímeros em bloco

Os copolímeros em bloco $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$, $E_{102}S_9E_{102}$ e $E_{71}S_{19}E_{71}$ foram sintetizados como parte deste trabalho nos laboratórios do grupo OMIC – Organic Materials Innovation Centre da Escola de Química da Universidade de Manchester, Reino Unido.

5.2. EXPERIMENTAL

As curvas de calibração para griseofulvina, rutina e quercetina foram obtidas a partir de soluções metanólicas com concentrações variando de 2,0 a 20,0 mg/dm³ com equipamento U-2000 Spectrophotometer Hitachi. Os comprimentos de onda para os picos específicos de absorção da griseofulvina, rutina e quercetina foram 292, 359 e 375 nm, respectivamente. Todas as leituras foram feitas em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho ótico.

Para os experimentos de solubilização foram preparadas soluções aquosas estoques a 1% m/v dos copolímeros $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$, $E_{102}S_9E_{102}$ e $E_{71}S_{19}E_{71}$ e da mistura S19/F127 70/30% (m/m). A uma porção de cada solução estoque (10 mL) foram adicionadas aproximadamente 5,0 mg dos fármacos a serem testados em frascos separados. As misturas foram agitadas a 25 ± 1 °C por 5 dias em banho termostatizado Quimis. Ao final deste período, porções de 3ml de cada uma das misturas foram filtradas em membrana Millipore de porosidade 0,45 µm. As misturas restantes nos frascos foram então agitadas a 37 °C pelo mesmo período.

Alíquotas filtradas (0,5 mL) do experimento realizado a 25 °C foram apropriadamente diluídas com metanol e a leitura no comprimento de onda para cada fármaco em cada uma das soluções foi realizada contra metanol puro. A quantificação

da solubilidade dos fármacos em água e as leituras nos mesmos comprimentos de onda para as soluções dos copolímeros foram realizadas para correção dos valores obtidos. Esta correção foi feita descontando-se a absorbância dos fármacos e dos copolímeros em água das absorbâncias totais medidas para as soluções dos copolímeros com fármaco. Todas as medidas foram realizadas em triplicata. Em seguida, o mesmo procedimento foi repetido para o experimento de solubilização realizado a 37 °C.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de calibração para os fármacos griseofulvina, rutina e quercetina em metanol encontram-se na Figura 27. A partir das curvas de calibração foram obtidas as Equações 93, 94 e 95, que relacionam absorção e concentração (mg/dm^3), para griseofulvina, rutina e quercetina, respectivamente:

$$A = 0,0681C \pm 0,0010 \quad (\text{Eq. 93})$$

$$A = 0,0260C \pm 0,0002 \quad (\text{Eq. 94})$$

$$A = 0,0683C \pm 0,0006 \quad (\text{Eq. 95})$$

Chaibundit e col. (2002) relatam que medidas de solubilidade da griseofulvina numa solução de polietileno glicol a 5% m/m ($M_n = 6000 \text{ g mol}^{-1}$) não diferiu significativamente da solubilidade do fármaco em água pura. Assim, a solubilização na corona, formada pelos blocos E, não é uma consideração relevante. A Figura 28 mostra o gráfico da solubilidade da griseofulvina em polietilenoglicol 6000 a 25 e 37 °C.

Crothers e col. (2005) também estimaram a s_{cp} da corona composta por blocos E e concluíram que esta não influencia significativamente o valor de s_{cp} do copolímero como um todo. Assim, apenas a porção hidrofóbica é levada em consideração e a capacidade de solubilização em mg/g de bloco hidrofóbico (s_h) é considerada. A solubilidade é calculada a partir dos valores de s_{cp} , e de W_h , onde W_h é a fração em peso do bloco hidrofóbico e fornece uma medida direta da eficiência da solubilização da griseofulvina em núcleos micelares.

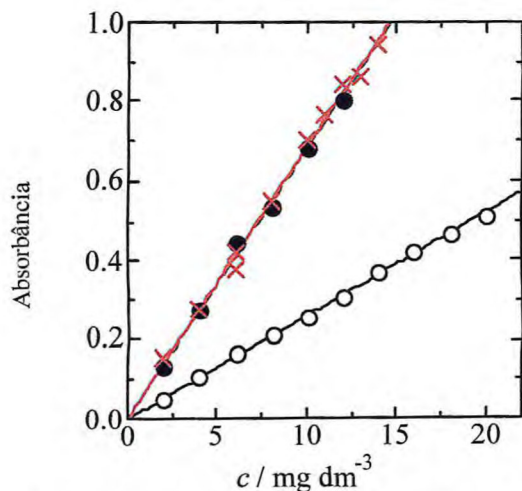


Figura 27. Curva de calibração para: (●) griseofulvina, (○) rutina e (x) quercetina em metanol.

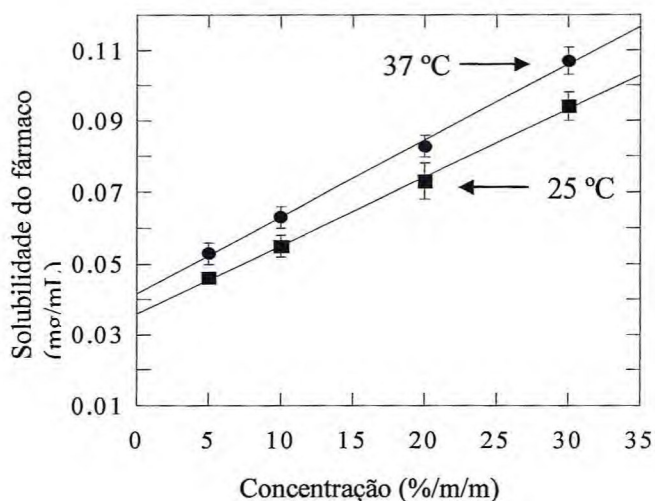


Figura 28. Solubilidade da griseofulvina em função da concentração do polietilenoglicol 6000 em 25 e 37 °C.

As Tabelas 16, 17, 18 e 19 mostram, respectivamente, os resultados dos experimentos de solubilização da griseofulvina em soluções aquosas dos copolímeros $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$ e $E_{102}S_9E_{102}$ a 1 % (m/m) a 25 °C. A absorbância total corresponde à absorbância da solução aquosa do copolímero com o fármaco; a absorbância do copolímero corresponde ao valor obtido para sua solução aquosa sem o fármaco no comprimento de onda de 292 nm.

Tabela 16. Solubilização da griseofulvina em solução aquosa de E₇₁S₅E₇₁ a 1% m/v, 25 °C.

E ₇₁ S ₅ E ₇₁	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3
Absorbância Total	0,462	0,469	0,488
Diluição (D _t)	8 x	8 x	8 x
Absorbância do copolímero	0,043	0,039	0,044
(D _c)	5 x	5 x	5 x
Absorbância do fármaco em água (A _f)	0,217	0,232	0,310
Diluição (D _f)	10 x	10 x	10 x
mg/L		19,3	
mg/g E ₇₁ S ₅ E ₇₁ (s _{cp})		1,9	
mg/g bloco hidrofóbico (s _h)		21,8	

Tabela 17. Solubilização da griseofulvina em solução aquosa de E₆₁S₇E₆₁ a 1% m/v, 25 °C.

E ₆₁ S ₇ E ₆₁	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3
Absorbância Total	0,667	0,697	0,659
Diluição (D _t)	8 x	8 x	8 x
Absorbância do copolímero	0,084	0,080	0,080
(D _c)	5 x	5x	5 x
Absorbância do fármaco em água (A _f)	0,217	0,232	0,310
Diluição (D _f)	10 x	10 x	10 x
mg/L		28,5	
mg/g E ₆₁ S ₇ E ₆₁ (s _{cp})		2,8	
mg/g bloco hidrofóbico (s _h)		20,7	

Tabela 18. Solubilização da griseofulvina em solução aquosa de E₇₀S₉E₇₀ a 1% m/v, 25 °C.

E ₇₀ S ₉ E ₇₀	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3
Absorbância Total	0,638	0,667	0,647
Diluição (D _t)	8 x	8 x	8 x
Absorbância do copolímero (D _c)	0,072	0,074	0,072
(D _c)	5 x	5 x	5 x
Absorbância do fármaco em água (A _f)	0,217	0,232	0,310
Diluição (D _f)	10 x	10 x	10 x
mg/L		34,0	
mg/g copolímero (S _{cp})		3,4	
mg/g bloco hidrofóbico (S _h)		22,8	

Tabela 19. Solubilização da griseofulvina em solução aquosa de E₁₀₂S₉E₁₀₂ a 1% m/v, 25 °C.

E ₁₀₂ S ₉ E ₁₀₂	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3
Absorbância Total (A _t)	0,708	0,638	0,733
Diluição (D _t)	8 x	8 x	8 x
Absorbância do copolímero (A _c)	0,1275	0,110	0,102
Diluição (D _c)	5 x	5 x	5 x
Absorbância do fármaco em água (A _f)	0,217	0,232	0,310
Diluição (D _f)	10 x	10 x	10 x
mg/L		36,7	
mg/g copolímero (S _{cp})		3,6	
mg/g bloco hidrofóbico (S _h)		33,6	

A aplicação dos dados da Tabela 16 na curva de calibração para a griseofulvina fornece a concentração do fármaco na solução micelar:

$$A = 0,0681C$$

$$(A_t \times \text{Diluição}) - (A_c \times \text{Diluição}) - (A_f \times \text{Diluição}) = 0,0681C \quad (\text{Eq. 96})$$

$$C = 15,3 \text{ mg/L}$$

As concentração das soluções dos copolímeros (C_c) é 1 % m/v, ou seja, 1 g/100 mL. Portanto, a capacidade de solubilização s_{cp} é 1,5 mg/g copolímero. A capacidade de solubilização s_h é calculada levando-se em conta a fração em massa do bloco hidrofóbico, conforme mencionado anteriormente:

$$s_h = C_{(mg/mL)} / C_c (mg/mL) \times W_h \quad (\text{Eq. 97})$$

$$s_h = 0,015 / 0,01 \times 0,087$$

$$s_h = 17,2 \text{ mg/g bloco hidrofóbico}$$

onde C é a concentração do fármaco na solução micelar em mg/mL, C_c é a concentração da solução do copolímero em mg/mL e W_h é a fração em massa do bloco hidrofóbico.

Para efeito de simplificação, os resultados obtidos para a solubilização de griseofulvina a 37 °C e de rutina e quercetina a 25 °C e a 37 °C foram compilados na Tabela 20. Os valores de solubilidade, em mg/100 mL, para griseofulvina, rutina e quercetina a 25 e 37°C são apresentados na Tabela 21.

Tabela 20. Capacidade de solubilização, s_{cp} (mg.g⁻¹) e s_h (mg.g⁻¹) dos copolímeros .

Copolímeros	T (°C)	G		R		Q	
		s_{cp}	s_h	s_{cp}	s_h	s_{cp}	s_h
E ₇₁ S ₅ E ₇₁	25	1,5	17,2	3,4	39,1	3,0	34,5
	37	3,2	37,7	4,9	56,3	4,2	48,2
E ₆₁ S ₇ E ₆₁	25	2,7	17,3	5,7	42,2	6,6	48,8
	37	3,4	25,2	7,7	57,0	8,2	60,7
E ₇₀ S ₉ E ₇₀	25	3,4	22,8	7,3	48,9	7,6	51,0
	37	5,3	35,5	8,7	58,3	9,1	61,1
E ₁₀₂ S ₉ E ₁₀₂	25	3,6	33,6	7,1	66,3	7,5	70,0
	37	5,1	47,6	8,1	75,7	8,2	76,6

De maneira geral, os valores de capacidade de solubilização (s_{cp}) para os flavonóides foram mais elevados do que para o fármaco griseofulvina. Tal fato deve-se à maior hidrofobicidade desses flavonóides, quando comparados com a griseofulvina, o que pode ser confirmado a partir dos dados de solubilidade dos fármacos (Tabela 21).

Tabela 21. Solubilização dos fármacos: griseofulvina, rutina e quercetina (mg/100 mL) em água a 25 e 37 °C.

Fármaco	Temperatura (°C)		Referência
	25	37	
Griseofulvina	10,0	12,0	Crothers e col., 2005
Rutina	1,9	5,7	Pinho, M.E.N., Dissertação de Mestrado, 2006
Quercetina	0,4	0,7	Pinho, M.E.N., Dissertação de Mestrado, 2006

A Figura 29 mostra uma crescente capacidade de solubilização para cada um dos fármacos com aumento do comprimento do bloco hidrofóbico para os copolímeros $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$ e $E_{102}S_9E_{102}$ a 25 °C. O copolímero $E_{70}S_9E_{70}$ solubiliza duas vezes mais griseofulvina e rutina e três vezes mais quercetina do que o copolímero $E_{71}S_5E_{71}$, que possui o menor bloco hidrofóbico da série. Estes dados demonstram que o comprimento do bloco hidrofóbico é um fator importante no processo de solubilização.

Resultados de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) forneceram informações sobre o raio hidrodinâmico, r_h , das micelas dos copolímeros. Valores obtidos de r_h foram 5,5; 6,4; 7,6 e 7,4 nm para os copolímeros $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$ e $E_{102}S_9E_{102}$, respectivamente. O aumento dos valores de r_h para a série é discreto, de modo que o aumento nos valores de s_{cp} deve ser influenciado por outro parâmetro, que não o tamanho da micela.

Crothers e col. (2005) mostraram que o valor N_w pode ser utilizado como um indicador da forma e do tamanho do “core” da micela. O fator determinante é o valor de N_w em relação ao comprimento médio do bloco hidrofóbico: o aumento no comprimento do bloco provoca um aumento no tamanho do “core” da micela, até que se atinge um valor crítico no qual se inicia a mudança de geometria das micelas de esférica para alongadas ou cilíndricas. Os valores de N_w aumentam na série, conforme determinado por Espalhamento de Luz Estático (SLS), indicando um aumento do “core” micelar com o aumento do comprimento do bloco hidrofóbico e, conseqüentemente, o aumento das capacidades de solubilização.

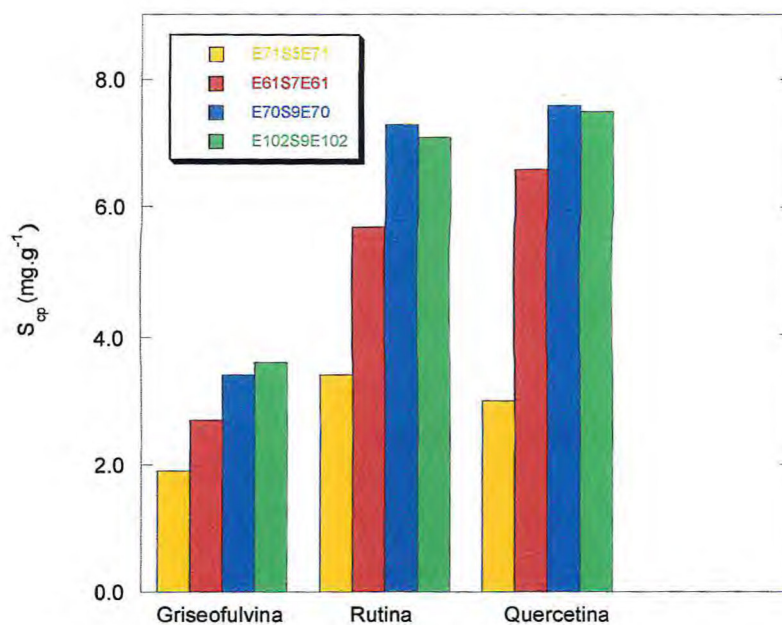


Figura 29. Capacidade de solubilização (s_{cp}) dos fármacos griseofulvina, rutina e quercetina em soluções aquosas dos copolímeros $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$ e $E_{102}S_9E_{102}$ em 25 °C.

Tabela 22. Capacidade de solubilização, s_{cp} ($\text{mg g}^{-1}_{\text{copol}}$), capacidade de solubilização por bloco hidrofóbico s_h (mg g^{-1}) de diferentes copolímeros para o fármaco griseofulvina em 25 °C.

Copolímero	s_{cp} (mg g^{-1})	s_h (mg g^{-1})	Referência
$E_{71}S_5E_{71}$	1,9	19,5	Este trabalho
$E_{61}S_7E_{61}$	2,7	17,3	Este trabalho
$E_{82}S_8E_{82}$	2,7	21,0	Taboada e col.,2005
$E_{70}S_9E_{70}$	3,4	22,8	Este trabalho
$E_{102}S_9E_{102}$	3,6	33,6	Este trabalho
$E_{66}S_{13}E_{66}$	4,0	18,0	Crothers e col.,2005
$E_{67}S_{15}E_{67}$	5,6	22,0	Crothers e col.,2005

O aumento da solubilização dos fármacos pode ser explicado também pelo comportamento das concentrações micelares críticas observado para esses copolímeros. Os copolímeros do tipo E_mS_n e $E_mS_nE_m$ apresentam concentrações micelares críticas (cmc) decrescentes com o aumento do bloco hidrofóbico (Crothers e col., 2005; Yang e col., 2003; Keralakis e col., 2001; Mai e col., 2000). O decréscimo nos valores de cmc significa um maior grau de micelização e, portanto, um número mais elevado de sítios possíveis para a solubilização dos fármacos.

Todos os copolímeros mostraram um aumento da capacidade de solubilização para os três fármacos quando a temperatura foi elevada a 37°C. A Figura 30 mostra, ilustrativamente, a capacidade de solubilização de griseofulvina, rutina e quercetina em soluções aquosas do copolímero $E_{61}S_7E_{61}$ em 25 °C e em 37 °C.

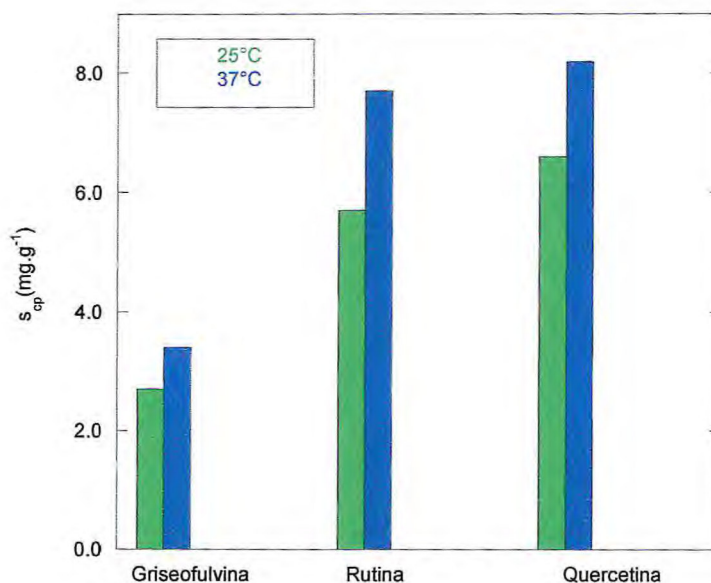


Figura 30. Capacidade de solubilização (s_{cp}) dos fármacos griseofulvina, rutina e quercetina em soluções aquosas dos copolímeros $E_{61}S_7E_{61}$ em 25 °C e 37 °C.

Os valores obtidos de r_h para os copolímeros a 37 °C foram 5,7; 6,5; 7,7 e 7,5 nm para os copolímeros $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$ e $E_{102}S_9E_{102}$, respectivamente. Estes valores não são significativamente diferentes daqueles obtidos a 25 °C, observando-se, entretanto, um aumento nos valores de s_{cp} a 37 °C. Este aumento pode ser atribuído ao

efeito da temperatura na solubilidade do fármaco, uma vez que para soluções nas quais os copolímeros formam micelas esféricas, o valor de N_w não é fortemente dependente da temperatura. Observou-se a formação de micelas cilíndricas para elevados valores de N_w , como por exemplo, $N_w > 240$ para $E_{17}S_8$ (25 e 30°C) e $N_w > 340$ para $E_{11}B_8$ (40°C). Dessa forma, copolímeros como $E_{82}S_8E_{82}$, $E_{20}S_{10}E_{20}$, $E_{66}S_{13}E_{66}$ e $E_{67}S_{15}E_{67}$, com valores de N_w variando de 11 a 25, apresentam micelas esféricas, ou aproximadamente esféricas (Crothers e col., 2005), assim como os copolímeros sintetizados neste trabalho.

Com isso, Yalkowsky e He (2003) mostraram um aumento de aproximadamente 50% na solubilidade da griseofulvina no intervalo de temperatura de 25-37 °C, assumindo-se um efeito semelhante para rutina e quercetina, o que também é sugerido a partir dos dados de solubilidade mostrados anteriormente na Tabela 22. O fato de que a solubilidade é maior em 37°C do que em 25°C significa que qualquer concentração de fármaco solubilizada em 25 °C permanece solubilizada em condições fisiológicas.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Este trabalho relata a síntese e caracterização dos copolímeros triblocos, $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$, $E_{102}S_9E_{102}$, $S_7E_{90}S_7$ e $E_{71}S_{19}E_{71}$ e do copolímero dibloco $E_{43}S_5$ pela técnica de ampolas e alto vácuo. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) permitiu a obtenção dos valores das massas molares numéricas médias e das massas molares mássicas médias dos copolímeros, confirmando-se estreitas distribuições de massa molar para todos os copolímeros. Os números médios dos comprimentos dos blocos determinados por RMN de ^{13}C .

As massas molares micelares (M_w) e números médios de associação (N_w) foram determinados por Espalhamento de Luz Estático, observando-se um aumento nos valores de M_w com o aumento do comprimento do bloco hidrofóbico para a série de copolímeros triblocos $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$, $E_{102}S_9E_{102}$ e $E_{71}S_{19}E_{71}$. O copolímero dibloco $E_{43}S_6$ apresentou uma massa molar micelar cerca de quatro vezes maior do que a do tribloco correspondente $E_{71}S_5E_{71}$. A diminuição da massa molar micelar para o tribloco é atribuída à conformação de laço que a cadeia do copolímero com esta arquitetura deve assumir quando da formação da micela, o que impõe restrições quanto ao número de moléculas de copolímero tribloco que podem formar a micela esférica. Os valores de N_w aumentaram com o aumento da temperatura para um dado copolímero em bloco, o que pode ser atribuído ao fato de a água se tornar um solvente mais pobre para os unímeros à medida que a temperatura aumenta. Os raios hidrodinâmicos (r_h) foram determinados para os copolímeros triblocos $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$, $E_{102}S_9E_{102}$ e $E_{71}S_{19}E_{71}$, obtendo-se valores na faixa de 5,5-7,4 nm, para os experimentos realizados em 25°C, e 5,7-7,5 nm, para os experimentos realizados a 40°C. A observação de que o r_h é independente da temperatura pode ser explicada como uma compensação entre um aumento no número de associação e um decréscimo na expansão da "corona" dos blocos terminais E, à medida que o solvente se torna mais pobre com o aumento da temperatura.

Estudos reológicos foram realizados por meio de diagrama de fases e reometria para o copolímero tribloco $E_{71}S_{19}E_{71}$ e sua mistura com o copolímero tribloco comercialmente disponível $E_{62}P_{39}E_{62}$ (F127) na proporção de 70/30% (m/m). Observou-se que os géis dos copolímeros $E_{71}S_{19}E_{71}$ são formados em concentrações próximas a 17 % (m/m) e são estáveis em concentrações elevadas e em altas temperaturas (90°C). A mistura $E_{71}S_{19}E_{71}$ /F127 70/30% (m/m) nas concentrações 18, 21 25 % (m/m) apresentou

limites de formação de gel semelhantes àqueles das soluções contendo somente F127. À medida que a concentração aumenta nessa faixa, a temperatura de formação de gel rígido cai de 68°C para 57°C, embora o valor de G' seja inferior ao relatado para sistemas semelhantes.

Estudos de solubilização foram realizados com os copolímeros $E_{71}S_5E_{71}$, $E_{61}S_7E_{61}$, $E_{70}S_9E_{70}$ e $E_{102}S_9E_{102}$ frente aos fármacos griseofulvina, rutina e quercetina em 25 e 37 °C. Resultados de Espalhamento de Luz Estático (SLS) mostraram que o aumento do comprimento do bloco hidrofóbico foi acompanhado pelo aumento dos valores dos números de associação massa médio das micelas (N_w), justificando o aumento das capacidades de solubilização (s_{cp}). Além disso, o aumento da solubilização dos fármacos pode ser explicado pelo decréscimo nos valores de concentração micelar crítica (cmc) com o aumento do bloco hidrofóbico, o que significa um maior grau de micelização e, portanto, um número mais elevado de sítios possíveis para a solubilização dos fármacos. Frente aos fármacos rutina e quercetina o copolímero que apresentou maiores capacidades de solubilização foi $E_{70}S_9E_{70}$; frente ao fármaco griseofulvina, o copolímero $E_{102}S_9E_{102}$ apresentou a maior capacidade de solubilização. Observou-se um aumento nos valores de s_{cp} em 37 °C, o pode ser atribuído ao efeito da temperatura na solubilidade do fármaco, uma vez que para soluções nas quais os copolímeros formam micelas esféricas, como é o caso dos copolímeros sintetizados neste trabalho, valor de N_w não é fortemente dependente da temperatura.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, M.L.; Andes, D.R.; Kwon, G.S. (2003) *Biomacromolecules*, 4(3), 750-757.
- Adams, M.L.; Lavasanifar, A.; Kwon, G.S. (2003) *Journal of Pharmaceutical Science*, 92, 1343-1355.
- Agrawal, S.K.; Sanabria-DeLong, N.; Coburn, J.M.; Tew, G.N.; Bhatia, S.R. (2006) *Journal of Controlled Release*, 112, 64-71.
- Alakhov, V.; Pietrzynski, G.; Patel, K.; Kabanov, A.; Bromberg, L.; Hatton, T.A. (2004) *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56, 1233-1241.
- Alakhov, V.Y.; Moskaleva, E.Y.; Batrakova, E.V.; Kabanov, A.V. (1996) *Bioconjugate Chemistry*, 7 (2), 209-216.
- Allen, C.; Han, J.; Yu, Y.; Maysinger, D.; Eisenberg, A. (2000) *Journal of Controlled Release*, 63, 275-286.
- Allen, C.; Han, J.; Yu, Y.; Maysinger, D.; Eisenberg, A. (2000) *Journal of Controlled Release*, 63, 275-286.
- Allen, C.; Maysinger, D.; Eisenberg, A. (1999) *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 16, 3-27.
- Aliabadi, H. M.; Lavasanifar, A. (2006) *Expert Opinion in Drug Delivery*, 3(1), 139-162.
- Aliabadi, H.M.; Brocks, D.R.; Lavasanifar, A. (2005) *Biomaterials*, 26, 7251-7259.
- Aliabadi, H.M.; Mahmud, A.; Sharifabadi, A.D.; Lavasanifar, A (2005) *Journal of Controlled Release*, 104, 301-311.
- Almgren, M.; Brown, W; Hvidt, S. (1995) *Colloid and Polymer Science*, 273, 2-15.
- Ammar, H.O.; Salama, H.A.; Ghorab, M.; Mahmoud, A.A. (2006) *International Journal of Pharmaceutics*, 320, 53-57.
- Bahadur, P.; Li, P.; Almgren, M.; Brown, W. (1992) *Langmuir*, 8(8), 1903-1907.
- Bailey, F.; Koleske, J., 1991. 'Alkylene Oxides and Their Polymers', Marcel Dekker, New York.
- Baker, M.T.; Naguib, M. (2005) *Anesthesiology*, 103, 860-876.
- Barnes, H.A., Hutton, J.F., Walters, K. (1989) 'An Introduction to Rheology', Vol. 3, Elsevier Science, New York.

- Batrakova, E.V.; Kelly, D.L.; Li, S.; Li, Y.; Yang, Z.; Xiao, L.; Alakhov, D.Y.; Sherman, S.; Alakhov, V.Y.; Kabanov, A.V. (2006) *Molecular Pharmaceutics*, 3, 113–123.
- Batrakova, E.V.; Li, S.; Li, Y.; Yu, V.; Alakhov, W.F. (2004) *Journal Controlled Release*, 100, 389–397.
- Batrakova, E.V.; Miller, D.W.; Li, S.; Alakhov, D.Y.; Kabanov, A.V.; Elmquist, W.F. (2001) *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 296, 551–557.
- Batrakova, E.V.; Dorodnych; Klinskii, E.Y.; Kliushnenkova, E.N; Shemchukova, O.B.; Goncharova, O.N.; Arjakov, S.A.; Alakhov, V.Y; Kabanov, A.V. (1996) *British Journal of Cancer*, 74, 1545–1552.
- Booth, C.; Attwood, D.; Price, C. (2006) *Physical Chemistry Chemical Physics*, 8, 3612–3622.
- Booth, C.; Attwood, D. (2000) *Macromolecular Rapid Communications*, 21, 501–527.
- Brown, W. (1993) *'Dynamic Light Scattering: The Method and some Applications'*, Clarendon Press, Oxford.
- Burt, H. M.; Zhang, X.; Toleikis, P.; Embree, L.; Hunter, W. L. (1999) *Colloids and Surfaces. B: Biointerfaces*, 16, 161–171.
- Chiappetta, D.A; Sosnik, A. (2007) *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 66, 303–317.
- Chu, B. and Zhou, Z., 1996. *'Nonionic Surfactants, Polyoxyalkylene Block Copolymers'*, Surfactant Science Series, M. Dekker, New York.
- Chaibundit, C.; Ricardo, N.M.P.S.; Crothers, M.; Booth, C. (2002) *Langmuir*, 18, 4277–4283.
- Chaibundit, C.; Mai, S-M; Heatley, F.; Booth C. (2000) *Langmuir*, 16, 9645–9652.
- Chu, B. (1991) *'Laser Light Scattering'*, Academic Press, New York.
- Croy, S.R.; Kwon, G. S. (2004) *Journal of Controlled Release*, 95, 161–171.
- Collett, J.H.; Tobin, E.A. (1979) *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 31, 174–177.
- Crothers, M.; Zhou, Z.; Ricardo, N. M.P.S.; Yang, Z.; Taboada, P.; Chaibundit, C.; Attwood, D.; Booth, C. (2005) *International Journal of Pharmaceutics*, 293, 91–100.

Crothers, M.E. D. Synthesis and Characterisation of Block Copolymers of Poly(ethylene oxide-*block*-styrene oxide) for the Enhancement of Drug Solubility, Tese de Doutorado, Universidade de Manchester, Inglaterra, 2003.

Crothers, M.; Attwood, D.; Collett, J.; Yang, Z.; Booth, C.; Taboada, P.; Mosquera, V.; Ricardo, N.; Martini, L. (2002) *Langmuir*, 18, 8685-8691.

Chu, B.; Zhou, Z.-K. in *Nonionic Surfactants, Poly(oxyalkylene) Block Copolymers, Surfactant Science Series*, Vol. 60, ed. V. M. Nace, Marcel Dekker, New York, 1996, p. 67.

Chu, B. (1995) *Langmuir*, 11, 414-421.

Chu, B.; Zhou, Z. (1988) *Journal of Colloid and Interface Science*, 126, 171-180.

Chu, B.; Zhou, Z. (1987) *Macromolecules*, 20, 3089-3091.

Conlon, D. A.; Crivello, J. V.; Lee, J. L.; O' Brien, M. J. (1989) *Macromolecules*, 22, 509-516.

Crothers, M.; Attwood, D.; Collett, J.; Booth, C.; Yang, Z.; Martini, L. (2002) *J. Pharm. Pharmacol.* 54 (suppl), 127.

Crothers, M.; Attwood, D.; Collett, J.; Booth, C.; Heatley, F.; Yang, Z.; Rekatas, C.; Martini, L.; Valder, C. (2001) *Proceedings International Symposium of Controlled Release Bioactive Materials*, 28, 504.

Damianaki, A.; Bakogeorgiou, E.; Kampa, M.; Notas, G.; Hatzoglou, A.; Panagiotou, S.; Gemetzi, C.; Kouroumalis, E.; Martin, P.M.; Castanas, E. (2000) *Journal of Cellular Biochemistry*, 78, 429-441.

Danson, S.; Ferry, D.; Alakhov, V.; Margison, J.; Kerr, D.; Jowle, D.; Brampton, M.; Halbert, G.; Ranson, M. (2004) *British Journal of Cancer*, 90 (11), 2085-2091.

Debye, P. (1947) *Journal of Physical and Colloid Chemistry*, 51, 18-32.

Debye, P. (1944) *Journal of Applied Physics*, 15, 338-347.

Demetzos, C.; Angelopoulou, D.; Kolokouris, A.; Daliani, I.; Mavromoustakos, T. (2001) *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 38, 703-710.

Dimitrova, E.; Bogdanova, S.; Mitcheva, M.; Tanev, I.; Minkov, E. (2000) *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26, 1297-1301.

Dubois, P.; Jerome, R.; Teyssie, P. (1991) *Makromol Chem Macromol Symp*, 42/43, 103-116.

- El-Kamel, A.H. (2002) *International Journal of Pharmaceutics*, 241, 47–55.
- Ferguson, J., Kemblowski, Z. (1991) '*Applied Fluid Rheology*', Elsevier Science, New York.
- Fisch, D.; Khan, I. M.; Smid, J. (1990) *Makromol Chem Macromol Symp*, 32, 241.
- Gans, R. (1925) *Ann. Physik*, 381, 29-38.
- Gao, Z.-G.; H.D. Fain, Z.-G.; Rapoport, N. (2005) *Journal of Controlled Release*, 102, 203–222.
- Gao, Z; Fain, H.D.; Rapoport, N. (2004) *Molecular Pharmaceutics*, 1, 317–330.
- Goniotaki, M.; Hatziantoniou, S.; Dimas K.; Wagner M.; Demetzos C. (2004) *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56, 1217-1224.
- Gordon, M. H.; Roeding-Penman, A. (1998) *Chemistry and Physics of Lipids*, 97(1), 79-85.
- Goodman. I, (1995) '*Developments in Block Copolymers-2*', Elsevier Applied Science, New York.
- Hadjichristidis, N.; Iatrou, H.; Pispas, S.; Pitsikalis, M.(2000) *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 38(18), 3211-3234.
- Hamaguchi, T.; Matsumura, Y.; Suzuki, M.; Shimizu, K.; Goda, R.; Nakamura, I.; Nakatomi, I.; Yokoyama, M.; Kataoka, K.; Kakizoe, T. (2005) *British Journal of Cancer*, 92 (7), 1240-1246
- Hamley, I.W.; Pedersen, J.S.; Booth, C.; Nace, V.M. (2001) *Langmuir*, 17 (20), 6386-6388.
- Hamley, I., 1998. '*The Physics of Block Copolymers*', Oxford University Press, Oxford .
- Hammad, M.A.; Muller, B.W. (1998) *International Journal of Pharmaceutics*, 169, 55–64.
- Han, L.-M.; Guo, J.; Zhang, L.-J.; Wang, Q.-S.; Fang, X.-L. (2006) *Acta Pharmacologica Sinica*, 27, 747–753.
- Harborne, J. B. (1976). *Phytochemical Methods Chapman and Hall*, London.
- Harborne, J. B.; Williams, C. A. (2000) *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
- Harrison, W.J.; Aboulgasem, G.J.; Elathrem, F.A.I.; Nixon, S.K.; Attwood, D.; Price, C.; Booth, C. (2005) *Langmuir*, 21 (14), 6170-6178.

- Hatada, K.; Kitayama, T.; Ute, K. (1988) *Progress in Polymer Science*, 13(3), 189-276.
- Havsteen, B. H. (2002) *Pharmacology and Therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
- Heatley, F.; Yu, G.; Draper, M.; Booth, C. (1991) *European Polymer Journal*, 27(6), 471-478.
- Hurter, P.N.; Alexandridis, P. e Hatton, T.A.,1995. Solubilization in amphiphilic copolymer solutions. In: S.D. Christian e J.F. Scamehorn, Editors, *Solubilization in Surfactant Aggregates, Surfactant Science Series*, Marcel Dekker, New York.
- Husseini, G.A.; Christensen, D.A.; Rapoport, N.Y.; Pitt, W.G. (2002) *Journal of Controlled Release*, 83,303–305.
- Hvidt, S.; Jorgensen, E.; Brown, W.; Schillen, K. (1994) *Journal of Physical Chemistry*, 98(47), 12320-12328.
- Iglesias, R.B.; Bromberg, L.; Temchenko, M.; Hatton, T.A.; Concheiro, A; Alvarez-Lorenzo, C. (2004) *Journal of Controlled Release*, 97, 537–549.
- Inoue, S.; Aida, T. G., 1990. *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, Suppl Vol.; Kroschwitz, J. I., Ed.; Wiley: New York, p-412.
- Jeong, Y.I.; Nah, J.W.; Lee, H.C.;Kim, S.H.; Cho, C.S. (1999) *International Journal of Pharmaceutics*, 188 (1), 49-58.
- Jette, K.K.; Law, D.; Schmitt, E.A.; Kwon, G.S. (2004) *Pharmaceutical Research*, 21, 1184-1191.
- Jones, M.-C. ; Leroux, J.-C. (1999) *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 48(2), 101-111.
- Kabanov, A.V.; Batrakova, E.V.; Alakhov, V.Y. (2002) *Journal of Controlled Release*, 82, 189-212.
- Kabanov, A. V.; Lemieux, P.; Vinogradov, S.; Alakhov, V. (2002) *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 223-233.
- Kabanov, A. V, Nazarova, I. R., Astafieva, I. R., Batrakova, E. V., Alakhov, V. Y., Yarostavov, A. A.; Kabanov, V. A. (1995) *Macromolecules* 28, 2303-2314.
- Kabanov, A.V.; Ckekhonin, V.P.; Alakhov, V.; Batrakova, E.V.; Lebedev, A.S.; Melik-Nubarov, N.S.; Arzhakov, S.A.; Levashov, A.V.; Morozov, G.V.; Severin, E.S.; Kabanov, V.A. (1989) *FEBS Letters*, 258, 343–345.

Kataoka, K.; Matsumoto, T.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Fukushima, S.; Okamoto, K.; Kwon, G.S. (2000) *Journal of Controlled Release*, 64, 143-153.

Kataoka, K.; Kwon, G.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y. (1992) *Journal of Controlled Release*, 24, 119-132.

Kelarakis, A.; Havredaki, V.; Rekas, C.; Mai, S.; Attwood, D.; Booth, C.; Ryan, A.; Hamley, I.; Martini, L. (2001) *Macromolecular Chemistry and Physics*, 202(8), 1345-1354.

Kelarakis, A.; Mai, S.M.; Havredaki, V.; Nace, V.M.; Booth, C. (2001) *Physical Chemistry Chemical Physics*, 3, 4037-4043.

Kim, T.Y.; Kim, D.W.; Chung, J.Y.; Shin, S.G.; Kim, S.C.; Heo, D.S.; Kim, N.K.; Bang, Y.J. (2004) *Clinical Cancer Research*, 10 (11), 3708-3716.

Kim, S.C.; Kim, D. W.; Shim, Y.H.; Bang, J.S. Oh, H.S.; Kim, S.W.; Seo, M.H., (2001) *Journal of Controlled Release*, 72, 191-202.

King, T.A. (1989) '*Comprehensive Polymer Science*', Eds. Booth, C., Price, C., Pergamon Press, New York, Vol.1, Capítulo 8.

Konigsberg, I.; Jagur-Grodzinski, J. (1983) *Journal of Polymer Science Part A-Polymer Chemistry*, 21 (8), 2535-2546.

Kricheldorf, H. R.; Berl, M.; Scharnagl, N. (1988) *Macromolecules*, 21(2), 286-293.

Kwon, G.; Naito, M.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. (1997) *Journal of Controlled Release*, 48, 195-201.

Kwon, G.S.; Naito, M.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. (1995) *Pharmaceutical Research*, 12, 192-195.

La, S.B.; Okano, T.; Kataoka, K. (1996) *Journal of Pharmaceutical Science*, 85, 85-90.

Lambert, C.; von Rague Schleyer, P. (1994) *Angewandte Chemie-International Edition in English*, 33(11), 1129-1140.

^aLavasanifar, A.; Samuel, J.; Kwon, G.S. (2002) *Journal of Controlled Release*, 79, 165-172.

^bLavasanifar, A.; Samuel, J. e Kwon, G.S. (2002) *Advanced Drug Delivery Review*, 54, 169-190.

Lavasanifar, A.; Samuel, J.; Kwon, G.S. (2000) *Journal of Biomedical Materials Research*, 54, 831-835.

Lavasanifar, A.; Samuel, J.; Kwon, G.S. (2001) *Journal of Controlled Release*, 77, 155-160.

- Le Garrec, D.; Goris, S.; Luo, L.; Lessard, D.; Smith, D.C.; Yessine, M.-A.; Ranger, M.; Leroux, J.-C. (2004) *Journal of Controlled Release*, 9, 83-10.
- P. Linse, P. (1993) *Journal of Physical Chemistry*, 97, 13896-13902.
- Liu, L.; Li, C. X.; Li, X. C.; Yuan, Z.; Na, Y.L.; He, B.L. (2001) *Journal of Applied Polymer Science*, 80, 1976-1982.
- Lundsted, L. (1951) *Journal of American Oil Chemists Society*, 28(7), 294-299.
- Lundsted, L. (1954) *U.S. Patent 2,674,619*, Wyandotte Chemicals Corp.
- Lundsted, L.; Schmolka I., 1976. *'Block and Graft Copolymers'*, John Wiley, New York.
- Mai, S.; Booth, C.; Kellarakis, A.; V. Havredaki; A. Ryan (2000) *Langmuir*, 16(4), 1681-1688.
- Mai, S.; Ludhera, S.; Heatley, F.; Attwood, D.; Booth, C. (1998) *Journal of Chemical Society- Faraday Transactions*, 94, 567-572.
- Malmsten, M.; Lindman, B. (1992) *Macromolecules*, 25(20), 5440-5445.
- Mays, J. W.; Hadjichristidis, N. (1989) *Polymer Bulletin*, 22(5-6), 471-474.
- Jerome, R.; Fayt, R.; Ouhadi, T. (1984) *Progress in Polymer Science*, 10, 87-170.
- March, J. (1977) *'Advanced Organic Chemistry'*, McGraw-Hill, New York.
- Markham, K. R. (1982) *Techniques of Flavonoids Identification*, Academic Press, London.
- Matsumura, Y.; Hamaguchi, T.; Ura, T.; Muro, K.; Yamada, Y.; Shimada, Y.; Shirao, K.; Okusaka, T.; Ueno, H.; Ikeda, M.; Watanabe, N. (2004) *British Journal of Cancer*, 91 (10), 1775-1781.
- McNealy, T.L.; Trojan, L.; Knoll, T.; Alken, P.; Michel, M.S. (2004) *Urology Research*, 32, 255-260.
- Merck, E., *Darmstadt*, Vitaminas Rutina: 1970, p.169.
- Middleton, E.; Kandaswami, C. (1992) *Biochemical Pharmacology*, 43, 1167-1179.
- Middleton, E., Kandaswami, C.; Theodorides, T. (2000) *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- McBain, J. (1913) *Transactions of Faraday Society*, 9, 99.

- Momot, K.I.; Kuchel, P.W.; Deo, P.; Whittaker, D. (2003) *Langmuir*, 19, 2088–2095.
- Morton, M.; Fetters, L. J. (1975) *Rubber Chemical and Technology*, 48, 359.
- Muller, M.; Lenz, R. W. (1989) *Makromolekulare Chemie*, 190(5), 1153-1168.
- Nace, V., 1996. 'Nonionic surfactants: Polyoxyalkylene block copolymers', Surfactant Science Series, M. Dekker, New York.
- Narajana, K.R.; Reddy, M. S.; Chaluvadi, M. R.; Krishna, D.R. (2001) *Indian Journal of Pharmacology*, 33, 2.
- ^aNishiyama, N.; Okazaki, S.; Cabral, H.; Miyamoto, M.; Kato, Y.; Sugiyama, Y.; Nishio, K.; Matsumura, Y.; Kataoka, K. (2003) *Cancer Research*, 63(24), 8977-8983.
- ^bNishiyama, N.; Koizumi, F.; Okazaki, S.; Matsumura, Y.; Nishio, K.; Kataoka, K. (2003) *Bioconjugate Chemistry*, 14(2), 449-457.
- Nishiyama, N.; Kataoka, K. (2001) *Journal of Controlled Release*, 74, (1-3), 83-94.
- Nishiyama, N.; Yokoyama, M.; Aoyagi, T.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. (1999) *Langmuir*, 15, 377-383.
- Oh, K.T.; Bronich, T.K. e Kabanov, A.V. (2004) *Journal of Controlled Release*, 94, 411-422.
- Okay, O.; Funke, W. (1990) *Macromolecules*, 23(10), 2623-2628.
- Ozaki, H.; Hirao, A.; Nakahama, S. (1992) *Macromolecules*, 25(5), 1391-1395.
- Pandit, N.K.; Wang, D. (1998) *International Journal of Pharmaceutics*, 167,183–189.
- Patravale, V.B.; Date, A.A.; Kulkarni, R.M. (2004) *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56(7), 827-840.
- Pecora, R. (1985) 'Dynamic Light Scattering: Application of Photon Correlation Spectroscopy', Plenum Press, New York.
- Pepić, I.; Jalsenjak, N.; Jalsenjak, I. (2004) *International Journal of Pharmaceutics*, 272, 57–64.
- Pinho, M.E.N. Solubilização de fármacos em formulações micelares de misturas de copolímeros triblocos, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

- Piskin, E.; Kaitian, X.; Denkbaz, E.B.; Kucukyavuz, Z. J. (1995) *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 7(4), 359-373.
- Provencher, S.W. (1979) *Makromolekulare Chemie*, 180(1), 201-209.
- Rapoport, N.Y.; Herron, J.N.; Pitt, W.G.; Pittina, L (1999) *Journal of Controlled Release*, 58, 153-162.
- Rapoport, N.(1999) *Colloids and Surfaces B: -Biointerfaces*, 16(1-4), 93-111.
- Rekatas, C.J.; Mai, S.-M.; Crothers, M.; Quinn, M.; Collett, J.H.; Attwood, D.; Heatley, F.; Martini L.; Booth, C. (2001) *Physical Chemistry Chemical Physics*, 3, 4769.
- Ricardo, N. M. P. S.; Honorato, S. B.; Yang, Z.; Castelletto, V.; Hamley, I. W.; Yuan, X.-F.; Attwood, D.;Booth, C. (2004) *Langmuir*, 20(10), 4272-4278.
- Rohn, C.L. (1995) '*Analytical Polymer Rheology: Structure-Processing-Property Relationships*', Hanser/Gardener, New York.
- Rosler, A.; Veermeulen, G.W.; Klok, H.-A. (2001) *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53, 95-108.
- Saettone, M.F.; Giannaccini, B.; Delmonte, G.; Campigli, V. ; Tota, G.; La Marca, F. (1988) *International Journal of Pharmaceutics*, 43, 67-76.
- Saija, A.; Scalese, M.; Lanza, M.; Marzullo, D.; Bonina, F.; Castelli, F. (1995) *Free Radical Biology and Medicine*, 19(4), 481-486.
- Saito, Y.; Kondo, Y.; Abe, M.; Sato, T. (1994) *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 42, 1348-1350.
- Santacesaria, E.; Sevio, M.; Lisi, L. and Gelosa, D. (1990) *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 29(5), 719-725.
- Sastry, N.V.; Hoffmann, H. (2004) *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 250, 247-261.
- Savic', R.; Eisenberg, A.; Maysinger, D. (2006) *Journal of Drug Targeting*, 14(6), 343-355.
- Savić, Snežana D.; Savić, Miroslav M.; Vesić, Sonja A.; Vuleta, Gordana M.; Müller-Goymann; Christel, C. (2006) *International Journal of Pharmaceutics*, 320, 86-95.
- Schade, C.; von Rague Schleyer, P. (1987) *Advances in Organometallic Chemistry*, 27, 169-278.

- Scherlund, M.; Brodin, A.; Malmsten, M. (2000) *International Journal of Pharmaceutics*, 211, 37–49.
- Schmitz, K. (1995) *'Dynamic Light Scattering by Macromolecules'*, Academic Press, London.
- Schmolka, I. (1967) *'Nonionic Surfactants'*, Surfactant Science Series, M. Dekker, New York.
- Schmolka, I.R. (1972) *Journal of Biomedical and Materials Research*, 6(6), 571-582.
- Schramm, G., *Reologia e Reometria: Fundamentos Teóricos e Práticos*, Tradutores: Cheila G. Mothé, Denise Z. Correia, Hans M. Petri, Michelle Gonçalves e Tatiana Carestiato, 2^a ed, Artliber, Rio de Janeiro, 2006, p. 46-50.
- Sepulchre, M.; Kassamaly, A.; Moreau, M.; Spassky, N. (1988) *Makromolekulare Chemie*, 189(10), 2485-2501.
- Sezgin, Z.; Yuksel, N.; Baykara, T. (2007) *International Journal of Pharmaceutics*, 332, 161–167.
- Sezgin, Z.; Yuksel, N.; Baykara, T. (2006) *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 64, 261–268.
- Shin, S.-C.; Cho, C.-W.; Oh, I.-J. (2000) *International Journal of Pharmaceutics*, 193, 213–218.
- Shin, S.-C.; Kim, J.-Y. (2000) *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 217–220.
- Shuai, X.; Merdan, T.; Schper, A.K.; Xi, F.; Kissel, T. (2004) *Bioconjugate Chemistry*, 15, 441-448.
- Stainsby, S.; Alexander, A. (1950) *Transactions of the Faraday Society*, 46, 587-597.
- Stevenson-Abouelnasr, D.; Hussein, G.A.; Pitt, W.G. (2007) *Colloids and Surfaces: B-Biointerfaces*, 55, 59–66.
- Soum, A. H.; Tien, C.-F.; Hogen-Esch, T. A.; D'Accorso, N. B.; Fontanille, M. (1983) *Makromolekulare Chemie-Rapid Communications*, 4(4), 243-248.
- Souza, R. F. V.; De Giovani, W. F. (2005) *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(9), 1985-1990.
- Suh, H.; Jun, H.W.; Dziminaskl, M.T.; Lu, G.W. (1997) *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 18(7), 623–633.

- Suh,H.; Jun, H.W. (1996) *International Journal of Pharmaceutics*, 129, 13–20.
- Svenson, S.; Tomalia, D. A. (2005) *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(15), 2106-2129.
- Szwarc, M. (1956) *Nature*, 78, 1168-1169.
- Taboada, P.; Velasquez, G.; Barbosa, S.; Yang, Z.; Nixon, S.K.; Zhou, Z.; Heatley, F.; Ashford, M.; Mosquera, V.; Attwood, D.; Booth, C. (2006) *Langmuir*, 22, 7465–7470.
- Taboada, P.; Velasquez, G.; Barbosa, S.; Castelletto, V.; Nixon, S.K.; Yang, Z.; Heatley, F.; Hamley, I.W.; Mosquera, V.; Ashford, M.; Attwood, D.; Booth, C. (2005) *Langmuir*, 21(12), 5263-5271.
- Tanford, C., 1980. *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, 2nd Ed.; J. Wiley and Sons, New York.
- Ündeger, Ü.; Aydın, S.; Ahmet, A.; Bağaran, A.; Bağaran, N. (2004) *Toxicology Letters*, 151(1), 143-149.
- US Patent 2003/0152630-A1.
- US Patent 2003/0009004-A1.
- Varshney, S. K.; Jacobs, C.; Hautekeer, J. P.; Bayard, P.; Jerome, R.; Fayt, R.; Teyssie, P. (1991) *Macromolecules*, 24(18), 4997-5000.
- Veyries, M.L.; Couarraze, G.; Geiger, S.; Agnely, F.; Massias, L; Kunzli, B; Faurisson, F.; Rouveix, B.(1999) *International Journal of Pharmaceutics*, 192,183–193.
- Wach, A.; Pyrzyńska, K.; Biesaga, M. (2007) *Food Chemistry*, 100(2), 699-704.
- Wanka, G.; Hoffmann, H. and Ulbricht, W. (1994) *Macromolecules* 27, 4145.
- Wiedmann, T. S.; Bhatia, R. e Wattenberg, L. W. (2000) *Journal of Controlled Release*, 65, 43.
- Witt, K.A.; Huber, J.D.; Egleton, R.D.; Davis, T.P. (2002) *J. Pharm. Exp. Therap.*, 303,760–767.
- WO 03/033593 A1.
- WO 02/00194 A2.
- Worsfold, D. J.; Bywater, S. (1960) *Canadian Journal of Chemistry*, 38, 1891-1900.
- Wurtz, A. (1863) *Annals de Chimie et dePhysique*, 69, 317-369.

www.skyepharma.com

Yalkowsky, S.H.; He, Y. (2003). *Handbook of Aqueous Solubilities*. CRC Press, Boca Raton.

Yang, Z.; Crothers, M.; Ricardo, N.; Chaibundit, C.; Taboada, P.; Mosquera, V.; Kelarakis, A.; Havredaki, V.; Martini, L.; Valder, C.; Collett, J.; Attwood, D.; Heatley, F.; Booth, C. (2003) *Langmuir*, 19, 943-950.

Yokoyama, M; Fukushima, S; Uehara, R; Okamoto, K; Kataoka, K; Sakurai, Y; Okano, T (1998) *Journal of Controlled Release*, 50 (1-3): 79-92.

Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. (1994) *Journal of Controlled Release*, 32 (1): 269-277.

Yu, B.G.; Okano, T.; Kataoka, K.; Kwon, G. (1998) *Journal of Controlled Release*, 53 (1-3): 131-136.

Yu, G.; Deng, Y.; Dalton, S.; Wang, Q.; Attwood, D.; Price C. and Booth, C. (1992) *Journal of Chemical Society, Faraday Transactions*, 88, 2537-2544.

Zhang, X.; Burt, H.M.; Van Hoff, D.; Dexter, D.; Mangold, D.; Degen, D.; Oktaba, M. e Hunter, W.L. (1997) *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 40, 81-86.

Zhang, X.; Jackson, J.K.; Burt, H.M. (1996) *International Journal of Pharmaceutics*, 132, 195-206.

Zhong, X. F.; Francois, B. (1990) *Makromolekulare Chemie-Macromolecular Chemistry and Physics*, 191, 2743-2753.

Zhongde, X.; Mays, J. W.; Xuexin, N.; Hadjichristidis, N.; Schilling, F. C.; Bair, H. E.; Pearson, D. S.; Fetters, L. J. (1985) *Macromolecules*, 18, 2560-2566.

Zhou, Z., Yang, Y., Booth, C. and Chu, B. (1996) *Macromolecules*, 29, 8357-8361.

Zimm, B.H. (1948) *Journal of Chemical Physics*, 16, 1093-1099.

Zimm, B.H.; Stein, R.S.; Doty, P. (1945) *Polymer Bulletin*, 1, 90-119.

Zuanazzi, J. A. S; Montanha, J. A., Flavonóides. In: Simões, M. O., *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5ed., Porto Alegre, UFRGS, 2004, 577.