

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara

Vítor Mattos Visoná

Síntese do copolímero PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL visando aplicação no combate de
biofilmes orais

Araraquara

2023

Vítor Mattos Visoná

Síntese do copolímero PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL visando aplicação no combate de biofilmes orais

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharelado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques

Araraquara

2023

V832s

Visoná, Vítor Mattos

Síntese do copolímero PEI-b-PEGMA-b-PCL visando aplicação no combate de biofilmes orais / Vítor Mattos Visoná. -- Araraquara, 2023
38 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Química) -
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química,
Araraquara

Orientador: Rodrigo Fernando Costa Marques

Coorientador: Rodolfo Debone Piazza

1. Biofilmes. 2. Nanopartículas. 3. Micelas. 4. Polímeros. 5.
Potencial zeta. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Vítor Mattos Visoná

Síntese do copolímero PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL visando aplicação no combate de biofilmes orais

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharelado em Química.

Araraquara, 27, novembro, 2023



Assinado de forma digital por RODRIGO FERNANDO COSTA MARQUES:57588961104
Dados: 2023.12.06 10:08:34 -03'00'

Banca examinadora

Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques (Orientador)

Documento assinado digitalmente
 SANDRA HELENA PULCINELLI
Data: 07/12/2023 10:03:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Sandra Helena Pulcinelli

 Assinado de forma digital por Fernando Lucas
Primo:04601107644
Dados: 2023.12.07 11:12:27 -03'00'

Prof. Dr. Fernando Lucas Primo

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Sérgio e Maria Eduarda pela confiança, apoio e segurança que me passaram principalmente nesses últimos 5 anos, tão cruciais;

A minha namorada Maria Eduarda por ser meu alicerce emocional para enfrentar as dificuldades;

Aos meus amigos Marcelo, João Pedro (Pina), Juan, Leo (Sabrininha) e Giovanna por todos os momentos de descontração, conversas e birritas;

Aos amigos do Grupo PET pelos momentos e ensinamentos;

Ao Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques pela orientação e por confiar mais do que eu mesmo em mim;

Ao Dr. Rodolfo Debone Piazza pela amizade, supervisão e por todas as discussões na realização deste trabalho;

Ao IQ UNESP/Araraquara pela infraestrutura e a todos os servidores que fazem essa máquina funcionar;

Ao CNPq pela bolsa concedida.

“So understand

Don't waste your time always searching for those wasted years

Face up, make your stand

And realize you're living in the golden years”

(IRON MAIDEN, 1986)

RESUMO

Os biofilmes orais são comunidades de microrganismos que se formam na cavidade bucal através da fixação gradual deles na superfície dos dentes e mucosa bucal. Suas estruturas são complexas contando com cavidades para fixação de mais células e canais para circulação de água nutrientes e secreções. Conforme os biofilmes se maturam os microrganismos secretam uma matriz extracelular composta por substâncias poliméricas extracelulares (SPE) que tem a função de proteger os microrganismos da ação do sistema imune, ataques antibióticos e alterações no ambiente a sua volta, além de função estrutural. Por ser composta, principalmente, por biopolímeros secretados pelas células, a SPE tem carga resultante negativa. Os biofilmes podem levar ao desenvolvimento de diversos problemas de saúde como aterosclerose, artrite reumatoide, diabetes de tipo 2, doença de Alzheimer e alguns tipos de câncer como o bucal. Devido aos problemas causados por essas comunidades e dificuldade de tratamento, são necessárias estratégias eficientes para a erradicação desses microrganismos. Dessa forma, este trabalho propõe e avalia nanopartículas micelares do copolímero anfifílico PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL para liberação de fármacos. O copolímero PEGMA-*b*-PCL já é estudado no contexto de carreamento de fármacos, sendo ele uma espécie química atóxica e biodegradável. Assim, foi adicionado ao copolímero a poliamina catiônica PEI em sua estrutura para fazer com que a partícula tenha carga de superfície positiva e sofra atração eletrostática com o biofilme. O trabalho focou na caracterização estrutural e físico-química do material. A síntese foi realizada, primeiramente, por polimerização por abertura de anel e, posteriormente, por adição de aza-Michael para funcionalizar PEGMA-*b*-PCL com PEI e foi confirmada por análises de espectroscopia vibracional na região do infravermelho. A adição de PEI a estrutura fez com que as partículas, antes com carga negativa, adquirissem potencial- ζ positivo na faixa de pH de 4,5 a 7,0. Por fim, foram obtidas partículas com aproximadamente 100 nm de diâmetro hidrodinâmico. A interpretação dos resultados obtidos leva a conclusão de que o material tem potencial para a aplicação.

Palavras-chave: biofilmes orais; nanopartículas poliméricas; micelas; PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL; PEG-*b*-PCL.

ABSTRACT

Oral biofilms are communities of microorganisms that are formed in the oral cavity through their gradual attachment to the surface of the teeth and oral mucosa. Its structures are complex, with cavities for the attachment of more cells and channels for the circulation of water, nutrients, and secretions. Biofilms are formed through the secretion of the extracellular matrix composed of extracellular polymeric substances (EPS), which have the function of protecting microorganisms from the action of the immune system, antibiotic attacks, and changes in the environment around them, in addition to their structural function. As it is mainly composed of biopolymers secreted by cells, EPS has a negative net charge. Biofilms can lead to the development of various health problems such as atherosclerosis, rheumatoid arthritis, type 2 diabetes, Alzheimer's disease, and some types of cancer, such as oral cancer. Due to the problems caused by these communities and the difficulty in treatment, efficient strategies are needed to eradicate these microorganisms. Therefore, this work proposes to evaluate micellar nanoparticles of the amphiphilic copolymer PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL for drug release. The PEGMA-*b*-PCL copolymer has already been studied in the context of drug delivery, as it is a non-toxic and biodegradable chemical species. Thus, the cationic polyamine PEI was added to the copolymer to make the particle have a positive surface charge and suffer electrostatic attraction with the biofilm. The work focused on the structural and physical-chemical characterization of the material. The synthesis was carried out, firstly, by ring-opening polymerization and, subsequently, by aza-Michael addition to functionalize PEGMA-*b*-PCL with PEI and was confirmed by spectroscopy analyses in the infrared region. The addition of PEI to the structure caused the particles, previously negatively charged, to acquire positive ζ -potential in the pH range of 4.5 to 7.0. Finally, particles with approximately 100 nm in hydrodynamic diameter were obtained. The interpretation of the results obtained leads to the conclusion that the material has potential for application.

Keywords: oral biofilms; polymeric nanoparticles; micelles; PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL; PEG-*b*-PCL.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Esquema representando a complexidade estrutural de um biofilme.....	11
Figura 2 -	Esquema representativo de um sistema copolimérico antes e depois da CMC.....	14
Figura 3 -	Exemplo de gráfico de energia potencial pela distância entre duas partículas coloidais.....	15
Figura 4 -	Esquema da protonação de aminas.....	16
Figura 5 -	Esquema de detecção da luz espalhada.....	18
Figura 6 -	Função de correlação de uma medida de DLS.....	18
Figura 7 -	Esquema de reação entre PEGMA e CL para síntese do dibloco.....	21
Figura 8 -	Esquema da funcionalização do dibloco com PEI.....	22
Figura 9 -	Espectros de RMN dos polímeros. Em preto PEGMA- <i>b</i> -PCL; em vermelho PEI- <i>b</i> -PEGMA- <i>b</i> -PCL.....	25
Figura 10 -	Espectro vibracional na região do infravermelho dos polímeros sintetizados. Em preto PEGMA- <i>b</i> -PCL; em vermelho PEI- <i>b</i> -PEGMA- <i>b</i> -PCL; em azul a mistura dos dois polímeros.....	27
Figura 11 -	Determinação da CMC do dibloco (em preto), do produto da síntese (Di-Tribloco, em azul) e do tribloco (em vermelho), a partir da variação de tensão de superfície em relação a concentração de polímero.....	30
Figura 12 -	Variação do potencial- ζ das micelas em função do pH. Em preto PEGMA- <i>b</i> -PCL; em vermelho PEI- <i>b</i> -PEGMA- <i>b</i> -PCL; em azul a mistura dos dois polímeros.....	31
Figura 13 -	Variação do diâmetro hidrodinâmico em função do pH. Em preto PEGMA- <i>b</i> -PCL; em vermelho PEI- <i>b</i> -PEGMA- <i>b</i> -PCL; em azul a mistura dos dois polímeros.....	32
Figura 14 -	Diâmetro hidrodinâmico das micelas formadas pelos respectivos polímeros medidos nos ângulos de detecção de 12,8° e 173°.....	34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	BIOFILMES.....	10
1.2	PLATAFORMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS.....	11
1.3	MICELAS POLIMÉRICAS.....	12
1.4	ESTABILIDADE COLOIDAL.....	14
1.5	O PAPEL DA CARGA.....	15
1.6	O ESPALHAMENTO DE LUZ.....	16
2	OBJETIVOS.....	20
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1	REAGENTES UTILIZADOS.....	21
3.2	SÍNTESE DO DIBLOCO PEGMA- <i>b</i> -PCL.....	21
3.3	ADIÇÃO DA PEI AO DIBLOCO.....	22
3.4	CARACTERIZAÇÕES.....	22
3.4.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR).....	22
3.4.2	Ressonância magnética nuclear de ¹ H (RMN).....	23
3.4.3	Tensão de superfície.....	23
3.4.4	Potencial-ζ.....	23
3.4.5	Diâmetro hidrodinâmico.....	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	24
4.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL.....	24
4.2	ESTABILIDADE COLOIDAL.....	29
5	CONCLUSÃO.....	35
6	PROPOSTAS FUTURAS.....	35

REFERÊNCIAS.....	36
-------------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO

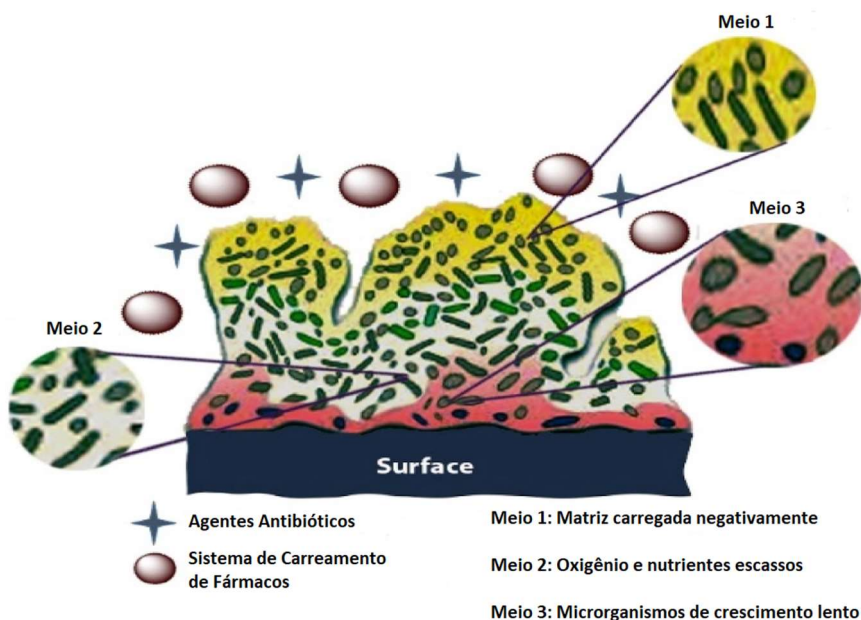
1.1 BIOFILMES

Doenças orais figuram entre os maiores desafios de saúde hoje. É estimado que estas enfermidades acometem 3,5 bilhões de pessoas no mundo, sendo a cárie a doença mais comum dentre elas^{1, 2}. Aliado a isto, são gastos 298 bilhões de dólares em tratamentos das doenças orais comuns³. Grande parte dessas condições tem uma causa em comum: os biofilmes orais. Também conhecidos como placa, consistem em complexas comunidades de microrganismos fixados na superfície dos dentes e mucosa oral⁴. Sua estrutura tridimensional conta com cavidades que auxiliam a fixação de mais células e canais para transporte de sais, nutrientes, água e substâncias secretadas pelas células^{5, 6}. Os biofilmes orais se formam através da fixação gradual de microrganismos, antes em estado planctônico, à superfície dos dentes e mucosa bucal. Processo regulado por comunicação célula-célula, também chamada de quorum-sensing^{6, 7}. Conforme se fixam, as células passam a secretar a matriz extracelular, composta de substâncias poliméricas extracelulares (SPE), que tem a função principal de ser o material de coesão das células⁵. A SPE é uma mistura altamente hidratada de biomoléculas composta, principalmente, por exopolissacarídeos, proteínas, RNA e DNA extracelular (eDNA). Os exopolissacarídeos e as proteínas, geralmente, tem função de adesão à superfície, estrutural, como fixação das células e coesão do biofilme, e retenção de água^{8, 9}. Às proteínas também recai a função de realizar atividade enzimática e comunicação entre as células⁶⁻⁸.

Além de função estrutural, a matriz garante aos microrganismos grande proteção. É sabido que microrganismos abrigados em biofilmes adquirem resistências até mesmo contra ambientes extremos, como resistência contra radiação UV, temperatura e pH extremos etc¹⁰. Além disso, no ambiente oral a matriz melhora as resistências dos microrganismos contra ação do sistema imune, variações no ambiente a sua volta e a ataques antibióticos. A resistência a antibióticos é um dos maiores desafios no tratamento dessas comunidades, haja visto que a matriz trabalha como uma barreira física e química contra eles impedindo, em parte, sua difusão no biofilme. Por serem estruturas altamente hidratadas, a utilização de fármacos hidrofóbicos é dificultada e a carga resultante aniônica impossibilita certos antibióticos e atrapalha o trabalho do sistema imune¹¹⁻¹³. Assim, a dosagem mínima para

erradicação dos microrganismos não é alcançada e, devido à grande capacidade de comunicação das células dentro da estrutura, os indivíduos resistentes conseguem compartilhar material genético com células menos resistentes facilmente^{6, 10, 13}.

Figura 1 - Esquema representando a complexidade estrutural de um biofilme.



Fonte: Adaptado de MALAEKEH-NIKOUEI, B. *et al* (2020)¹².

Os biofilmes maduros são comunidades vivas e complexas e as atividades metabólicas realizadas pelos microrganismos residentes podem induzir a diversas complicações de saúde no hospedeiro. Os biofilmes podem ser a causa de doença periodontal, infecções endodônticas e cáries, em parte em razão do baixo pH no interior das comunidades, que pode chegar a 4,5^{4, 14}. Porém, estudos mostram que existem ligações entre os biofilmes e enfermidades como aterosclerose, artrite reumatoide, diabetes de tipo 2, doença de Alzheimer e alguns tipos de câncer como o bucal^{4, 15-18}. Desta forma, em vista de todas as possíveis complicações e da dificuldade de tratamento associados aos biofilmes orais, se fazem necessárias estratégias para a erradicação desses microrganismos de forma eficiente. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar uma nanopartícula polimérica para futura aplicação na liberação de um fármaco hidrofóbico para tratar os biofilmes.

1.2 PLATAFORMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

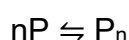
A utilização de plataformas de liberação de fármacos é vantajosa quando comparada a soluções de fármacos. O carreador de fármacos é utilizado para

aumentar a biodisponibilidade da molécula ativa e melhorar sua absorção celular. As propriedades físico-químicas do carreador podem ser modificadas de acordo com uma estratégia específica para que a liberação seja mais seletiva^{19, 20}. Existem diversas plataformas estudadas atualmente como hidrogéis, nanopartículas revestidas, micelas etc. Hidrogéis são estruturas poliméricas reticuladas capazes de absorver água e podem ser utilizados para liberação de fármacos por serem biocompatíveis e atóxicos. São muito utilizados para aplicações tópicas, ou seja, na pele, liberando fármacos para cicatrização de ferimentos. Materiais inorgânicos também são utilizados. Brandt *et al* (2021)²² utilizou nanopartículas de óxido de ferro (Fe_3O_4) revestidas com PEGMA-*b*-PCL funcionalizado com ácido fólico para liberação de metotrexato em um sistema *core@shell*, conseguindo uma eficiência de incorporação de 95%. Neste trabalho a plataforma explorada foi a micela polimérica, uma estrutura de associação formada por copolímeros anfifílicos^{12, 21, 22}. A utilização de soluções de fármacos necessitaria de concentrações elevadas da molécula ativa, visto a proteção que a matriz extracelular garante às células, e somente parte do fármaco entraria em contato com o biofilme. Ademais utilização deste método poderia levar a intoxicações sistêmicas¹². Assim, a utilização de carreadores protege, também, o usuário enquanto se aproveita da liberação controlada para tratar os biofilmes com maior eficiência.

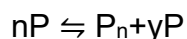
1.3 MICELAS POLIMÉRICAS

Dentre os diversos materiais que podem ser utilizados, os polímeros apresentam a vantagem de serem versáteis graças a facilidade de modificação em sua estrutura²¹. Muitas vezes são aplicadas estruturas de associação, chamadas micelas, para a função de carreadores de fármacos. Essas estruturas são formadas por polímeros que tem parte de sua cadeia hidrofóbica e a outra parte hidrofílica, ou seja, uma molécula anfifílica. Dessa forma, esses polímeros têm a propriedade de formar micelas quando estão acima da concentração micelar crítica (CMC). As micelas, em água, são estruturas com um centro lipofílico e superfície externa hidrofílica. Assim, a porção hidrofílica protege o centro hidrofóbico e o fármaco de degradação e aumenta a biodisponibilidade da molécula ativa^{12, 21, 22}. Também se formam em meios orgânicos lipofílicos, nesse caso são nomeadas micelas inversas, consistindo em um núcleo hidrofílico e superfície hidrofóbica. Existem três modelos para explicar a formação de micelas em solução com moléculas surfactantes ou polímeros anfifílicos. A primeira hipótese leva em consideração a interação repulsiva

entre grupos alquila, hidrofóbicos, presentes na molécula e a água. Segundo a qual, a água no entorno de um grupo alquila se organiza em clatratos e as moléculas de surfactante se agregam formando micelas e liberando as moléculas de água antes organizadas. Este modelo havia sido usado para explicar o grande aumento de entropia na formação de micelas, estruturas organizadas. Porém, experimentos posteriores levaram ao desenvolvimento de outros dois modelos, de associação fechada e de separação de fase. O primeiro descreve que assim que a CMC é atingida as moléculas anfifílicas entram em um equilíbrio entre as estruturas micelares e as moléculas na superfície do solvente.

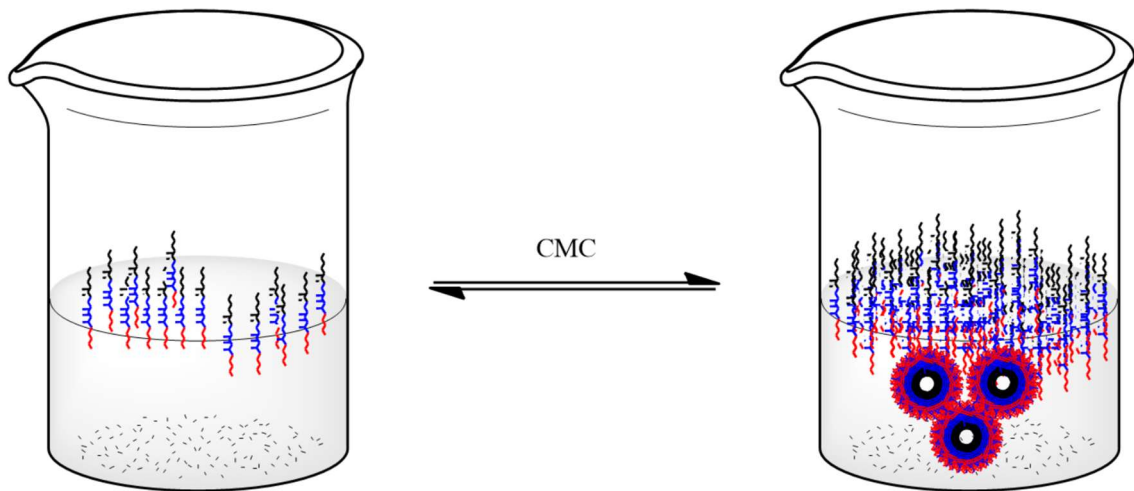


Sendo “n” o número de moléculas, “P” o polímero e “P_n” a micela. O segundo considera que, na formação das micelas, é formada uma nova fase na solução. Desta forma, a solução é composta por uma fase aquosa e fases hidrofóbicas constituídas no núcleo das micelas.



Sendo “y” o número de moléculas na solução²⁵. As partículas podem ter suas superfícies facilmente modificadas funcionalizando a porção hidrofílica do polímero, como é descrito por Brandt, J. V. *et al*²⁶ que adicionou ácido fólico ao copolímero polietilenoglicol metacrilato-*b*/oco-policaprolactona (PEGMA-*b*-PCL) para o carregamento de metotrexato. Nesse sentido, são empregados copolímeros em bloco que consistem em um polímero formado por dois ou mais homopolímeros ligados por ligações covalentes²⁷.

Figura 2 - Esquema representativo de um sistema copolimérico antes e depois da CMC.



Fonte – Elaborado pelo autor (2023).

1.4 ESTABILIDADE COLOIDAL

A estabilidade em sistemas coloidais pode ser discutida tanto na tendência de sedimentação por ação da gravidade quanto na tendência de agregação. Visto que coloides, em geral, não são termodinamicamente estáveis a estabilidade coloidal se refere a cinética, mais especificamente, o tempo que o sistema em questão leva para perder a estabilidade²⁵. Desta forma, a tendência de sóis, ou dispersões coloidais, é a agregação²⁸. Neste sentido estabilidade de agregação é estudada e explicada a partir do potencial de par coloidal. Este potencial é uma energia livre calculada através da somatória das componentes relacionadas com as interações entre duas partículas coloidais isoladas. Assim, o balanço entre as interações repulsivas e atrativas determina a estabilidade cinética de um sistema coloidal. Sendo essa a base para a teoria de estabilidade coloidal de Derjaguin, Landau, Verwey e Overbeck (DLVO)²⁵.

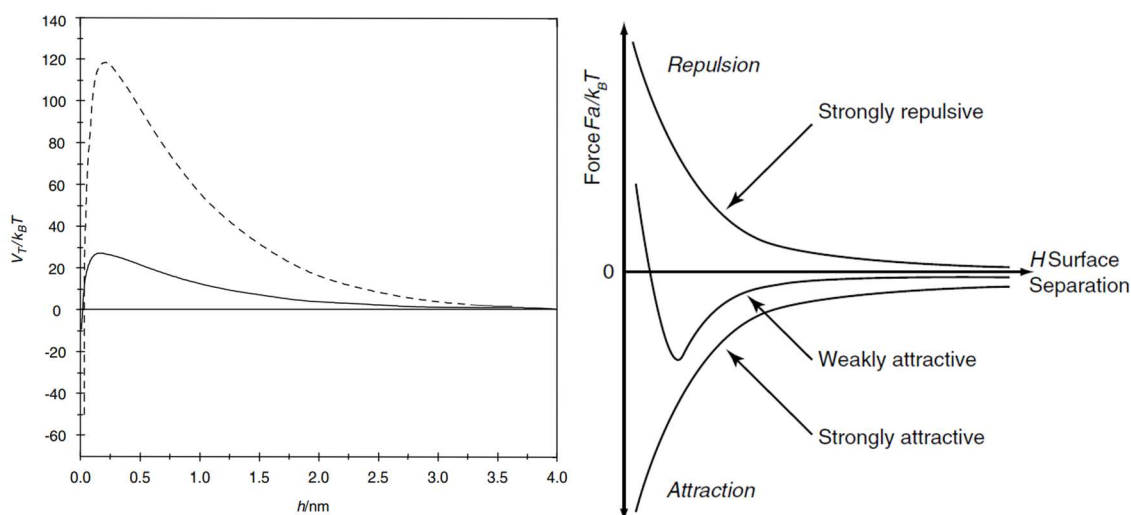
A primeira contribuição a ser citada são as interações atrativas. Moléculas apolares tem a capacidade de adquirir dipolos instantâneos devido a movimentação dos seus elétrons, fenômeno descrito por London. Por serem constituídas por vários átomos e/ou moléculas as partículas coloidais em uma dispersão tem, também, essa capacidade de adquirir dipolos instantâneos e dessa forma são atraídas umas às outras por interações de van der Waals. Devido às partículas serem formadas por

diversos átomos/moléculas, os dipolos somados resultam em uma interação de longo alcance, comparável ao raio da partícula²⁵.

Por outro lado, há a repulsão eletrostática. Neste caso a repulsão se dá pela sobreposição das duplas camadas elétricas de duas partículas. Com a aproximação das duas partículas, as camadas entram em sobreposição e gera uma maior concentração de íons entre as partículas fazendo com que haja uma pressão osmótica forçando essas partículas a se repelirem²⁵.

Desta forma, com a soma dessas contribuições é construído um gráfico de potencial por distância das partículas. Como pode-se perceber, é como se houvesse uma barreira de potencial entre as partículas, porém, uma vez que estas fiquem próximas o suficiente há agregação^{25, 28}. A análise dos gráficos presentes na Figura 3 ajuda a entender o balanço de forças repulsivas e atrativas e como ele influencia a estabilidade. Quando as forças repulsivas superam as atrativas o coloide apresenta alta estabilidade cinética. E quando acontece o contrário a tendência é que as partículas se agreguem facilmente.

Figura 3 - Exemplo de gráfico de energia potencial pela distância entre duas partículas coloidais.



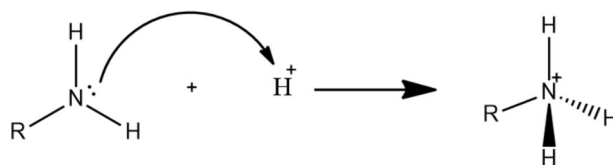
Fonte: COSGROVE, T. (2010).²⁵

1.5 O PAPEL DA CARGA

Neste trabalho é estudada a adição da polietilenoimina (PEI), uma polamina, ao PEGMA-*b*-PCL. Assim, o copolímero anfifílico tem como sua porção hidrofóbica a

policaprolactona (PCL), polímero originado da ϵ (épsilon)-caprolactona (CL), um poliéster biodegradável e semicristalino muito utilizado em pesquisas de engenharia de tecidos e liberação de fármacos²⁹⁻³¹. Já o polietilenoglicol (PEG) é um poliéter hidrofílico muito utilizado tanto em materiais não aplicados a biomedicina, principalmente para aumentar a estabilidade coloidal desses materiais, processo denominado PEGylation³², e é empregado para diminuir a imunogenicidade de biomoléculas como proteínas e aumentar a biodisponibilidade de partículas e fármacos, através de plataformas de carregamento^{31, 34}. Por fim, adiciona-se a PEI ao dibloco com o objetivo de modificar a superfície das partículas alterando o comportamento de potencial- ζ (zeta) da mesma, visto que as aminas têm a característica de serem protonadas em seu orbital sp^3 preenchido, obtendo, assim, carga catiônica³⁴. É devido a esta carga positiva que a PEI é utilizada em pesquisas de terapia gênica³⁵ e é utilizado neste trabalho para que a sua adição promova atração eletrostática entre as partículas carregando o fármaco e o biofilme carregado negativamente.

Figura 4 - Esquema da protonação de aminas.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

1.6 O ESPALHAMENTO DE LUZ

O espalhamento de luz foi uma técnica de análise central neste trabalho. Esta técnica se baseia na interação entre a luz e material particulado que espalha esta luz. O fenômeno de espalhamento havia sido observado através do efeito Tyndall e foi descrito matematicamente por Rayleigh, a princípio. Existem duas modalidades dessa técnica: o espalhamento de luz estático (SLS) e o espalhamento de dinâmico (DLS). A diferença entre os dois é basicamente que o primeiro utiliza a intensidade de luz média espalhada em função do tempo, enquanto o segundo mede esta intensidade de maneira diferencial em relação ao tempo⁴¹. Isto se deve ao fato de que cada uma das técnicas utiliza um tratamento matemático diferente.

O SLS é geralmente mais utilizado para medição da média de massa molar (M_w) de macromoléculas como polímeros. Isto é realizado através do plot de Debye que consiste em um gráfico linear baseado na equação de Rayleigh (Eq. 1).

$$\frac{K.C}{R_\theta} = \left(\frac{1}{M_w} + 2A_2.C \right) P_{(\theta)} \quad (1)$$

Sendo R_θ o raio de Rayleigh, M_w a média da massa molar, A_2 o segundo coeficiente de virial, C a concentração, $P_{(\theta)}$ a dependência angular e K a constante óptica.

$$K = \frac{4.\pi^2}{\lambda_0^4.N_A} \left(n_0 \cdot \frac{dn}{dC} \right)^2 \quad (2)$$

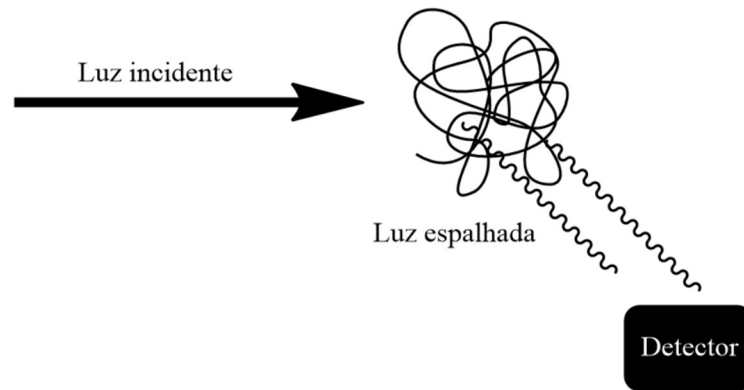
Sendo N_A a constante de Avogadro, λ_0 o comprimento de onda do laser, n_0 é o índice de refração do solvente e $\frac{dn}{dC}$ o incremento diferencial do índice de refração.

Desta forma, é construído o gráfico de Debye $\frac{K.C}{R_\theta}$ por concentração, no qual o ponto de intersecção é o inverso da média da massa molar $\left(\frac{1}{M_w} \right)$ e a inclinação, proporcional ao A_2 . Por sua vez, o A_2 diz respeito a qualidade de interação do polímero com o solvente.

Já o DLS mede a mobilidade Browniana de partículas dispersas. Partículas menores se movem mais rápido que as maiores e assim são quantificadas populações de diâmetro hidrodinâmico. Isto é, a luz espalhada pela amostra irá sofrer, no caminho até o detector, interferências construtivas e destrutivas. É utilizada a equação de Stokes-Einstein para relacionar a mobilidade Browniana medida com o diâmetro hidrodinâmico. Para tal, é utilizado o sinal obtido pela luz espalhada para determinar uma função de correlação (Figura 6) e esses dados são usados para calcular a distribuição de diâmetro hidrodinâmico. Existem três distribuições: por intensidade, por volume e por número. Intensidade se refere a intensidade de luz espalhada e como partículas maiores espalham mais que as menores, estas são mais evidenciadas (na ordem de 10^6 , para uma partícula de tamanho 10x comparada a uma partícula de tamanho x). Já o volume é obtido através da teoria de Mie e se refere ao volume das partículas e as partículas maiores também são mais evidenciadas (10^4 utilizando a mesma comparação). Por fim, número mantém a proporção das partículas dispersas,

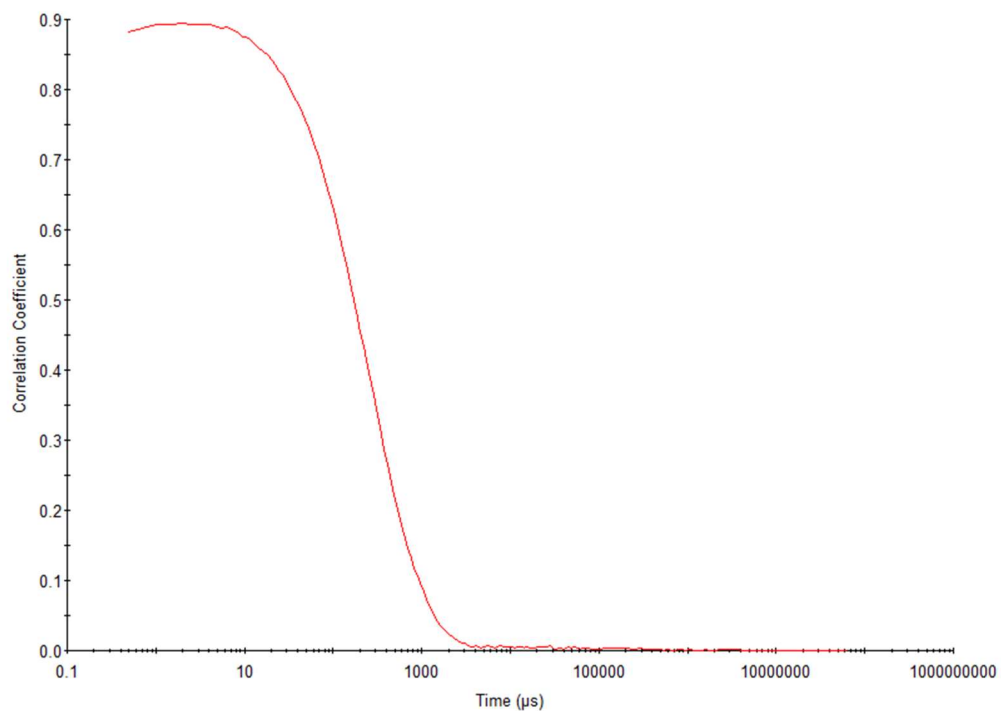
logo se há uma partícula de tamanho x e uma de tamanho $30x$, elas apareceriam com a mesma proporção⁴¹.

Figura 5 - Esquema de detecção da luz espalhada.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 6 - Função de correlação de uma medida de DLS.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Por DLS também pode ser medido o potencial- ζ . Uma partícula dispersa em um líquido afeta o ambiente químico ao seu redor e é formado a sua volta uma dupla camada elétrica, composta por uma camada ligada e coesa (camada de Stern) na superfície da partícula e uma camada dispersa, na qual os íons ainda sofrem a ação

da carga da partícula, porém não se organizam de forma coesa. A interface entre a camada de Stern e a camada dispersa é chamada de superfície de cisalhamento hidrodinâmico e o potencial dessa interface é o potencial- ζ ^{28, 41}. O potencial- ζ é geralmente utilizado para aferir estabilidade coloidal, pois é próximo do potencial de Stern e de mais simples determinação^{25, 41}. Desta forma, partículas carregadas sofrem ação de efeitos eletrocinéticos como eletrosmose e eletroforese. No caso do DLS ele determina a mobilidade eletroforética das partículas para o cálculo do potencial- ζ a partir da equação de Henry. É utilizada uma cubeta capilar equipada com eletrodos, na qual é aplicado um potencial e as partículas se movem para o eletrodo de polaridade oposta. Assim o equipamento registra a mobilidade eletroforética delas e calcula o potencial- ζ ⁴¹.

Tendo em vista o que foi discutido acima, este trabalho propõe a modificação da superfície das micelas do copolímero PEGMA-*b*-PCL para que elas tenham um comportamento catiônico realizando a adição da poliamina PEI na insaturação do carbono alfa (α) da carbonila do metacrilato presente na extremidade hidrofílica do copolímero, ou seja, PEGMA. Assim tendo uma maior estabilidade coloidal e visando que as micelas sofram atração eletrostática pelos biofilmes.

2 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral a avaliação do copolímero tribloco PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar o copolímero tribloco PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL;
- Avaliar os efeitos da adição da poliamina PEI nas características físico-químicas do dibloco PEGMA-*b*-PCL;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção serão descritas as sínteses utilizadas bem como os métodos de caracterização empregados.

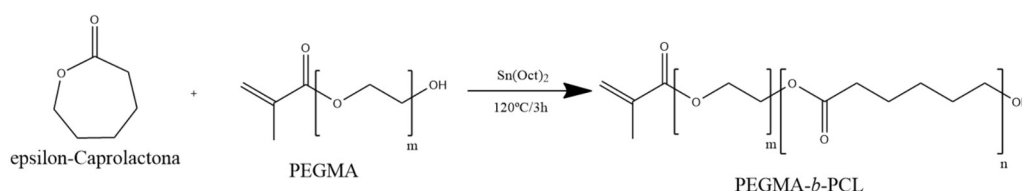
3.1 REAGENTES UTILIZADOS

Os polímeros e monômeros utilizados nas sínteses foram o polietileno glicol metacrilato $M_n = 500$ g/mol (PEGMA, Sigma-Aldrich), a ϵ -caprolactona (CL, Sigma-Aldrich) e a polietileno imina ramificada $M_n = 600$ g/mol (PEI, Sigma-Aldrich). Os catalisadores utilizados foram o 2-etilhexanoato de estanho (II) ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$, Sigma-Aldrich) e a trietilamina (TEA, Sigma-Aldrich). Os solventes utilizados em caracterizações, purificações e sínteses foram o clorofórmio (Neon Reagentes Analíticos), hexano (Labsynth), clorofórmio-d (deuterado, Sigma-Aldrich), tetraidrofurano (THF, J. T. Baker), N, N-dimetilformamida (DMF, Applichem), tolueno (Sigma-Aldrich), etanol (Dinâmica Química Contemporânea) e metanol (Sigma-Aldrich). Foi também utilizado gás argônio (Ar) comercial para substituir o ar atmosférico na síntese de PEGMA-*b*-PCL no meio reacional. Todos os reagentes utilizados apresentavam pureza analítica e, desta forma, não foi necessário nenhum processo de purificação.

3.2 SÍNTESE DO DIBLOCO PEGMA-*b*-PCL

A síntese foi realizada por polimerização por abertura do anel da ϵ -caprolactona utilizando PEGMA como iniciador e $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ como catalisador da reação. Foi respeitada a proporção de 1 PEGMA:4 CL de forma a obter uma formulação próxima a 1 PEGMA:1 PCL em massa. Foi utilizado 0,34 mL de catalisador. Devido a ambos os precursores e o catalisador serem líquidos, não foi necessária utilização de solvente e o meio reacional foi mantido a 120°C sob agitação magnética constante e atmosfera inerte de argônio. O produto da síntese era então solubilizado com clorofórmio e precipitado com hexano gelado para purificação^{26, 39}.

Figura 7 - Esquema de reação entre PEGMA e CL para síntese do dibloco.

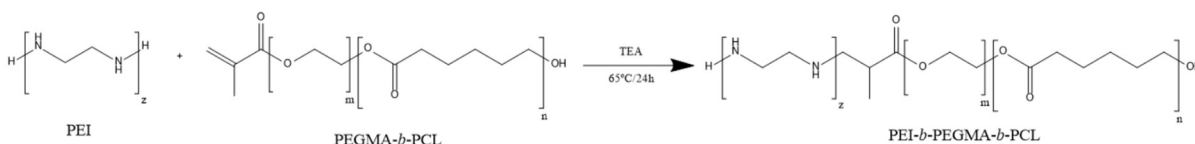


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

3.3 ADIÇÃO DA PEI AO DIBLOCO

A síntese foi realizada por uma adição de aza-Michael. Desta forma as aminas secundárias ou primárias da PEI se ligam à insaturação presente no carbono α da carbonila do metacrilato presente na cadeia de PEGMA. A síntese foi realizada em uma proporção de 1 PEI:1 PEGMA-*b*-PCL utilizando a massa de dibloco medida determinada por RMN. A síntese foi feita em solução aquosa de etanol e trietilamina (TEA) para manter o pH em torno de 9. O dibloco, insolúvel na solução, foi disperso através de banho de ultrassom, então a PEI foi adicionada e a solução foi mantida a 65°C por 24h e agitação magnética contante³⁸. O produto foi purificado de duas formas: primeiramente foram realizadas diálises, mas passou-se a utilizar lavagens sucessivas com água ultrapura e centrifugação, para poupar tempo, e o produto era, então, liofilizado. Após a liofilização, foi percebido, pelo espectro vibracional na região do infravermelho, que ainda havia dibloco e o produto se tratava de uma mistura. Portanto, foram realizadas lavagens com clorofórmio, porém este procedimento diminui muito o rendimento.

Figura 8 - Esquema da funcionalização do dibloco com PEI.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

3.4 CARACTERIZAÇÕES

3.4.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros foram obtidos em um equipamento Perkin Elmer Frontier por reflectância difusa (Drift). As amostras foram diluídas em brometo de potássio (KBr) seco utilizando gral e pistilo de ágata. A aquisição dos espectros foi realizada em 128 varreduras de 4000 a 400 cm^{-1} .

3.4.2 Ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN)

Os espectros de RMN foram obtidos em um equipamento Bruker Avance HD600. As amostras foram preparadas diluindo os polímeros em clorofórmio deuterado (CDCl_3) e, portanto, o pico localizado em 7,23 ppm corresponde a ele.

3.4.3 Tensão de superfície

A curva de tensão interfacial por concentração foi obtida em um goniômetro Ângulo de Contato OCA 15. O método utilizado foi o de gota pendente, no qual se tira uma foto de uma gota de solução na iminência de queda e o equipamento mede seus parâmetros através do perfil da mesma. A tensão de superfície é então determinada pela equação de Young-Laplace.

3.4.4 Potencial- ζ

O potencial- ζ foi adquirido utilizando um equipamento Malvern Zetasizer Nano ZS. O potencial- ζ é calculado através do movimento eletroforético das partículas dispersas. Os polímeros foram dispersos em solução aquosa 0,001 mol/L de cloreto de sódio (NaCl) e a titulação se deu variando o pH do meio de 2,5 a 10,0, medido a cada 0,5 unidade de pH.

3.4.5 Diâmetro hidrodinâmico

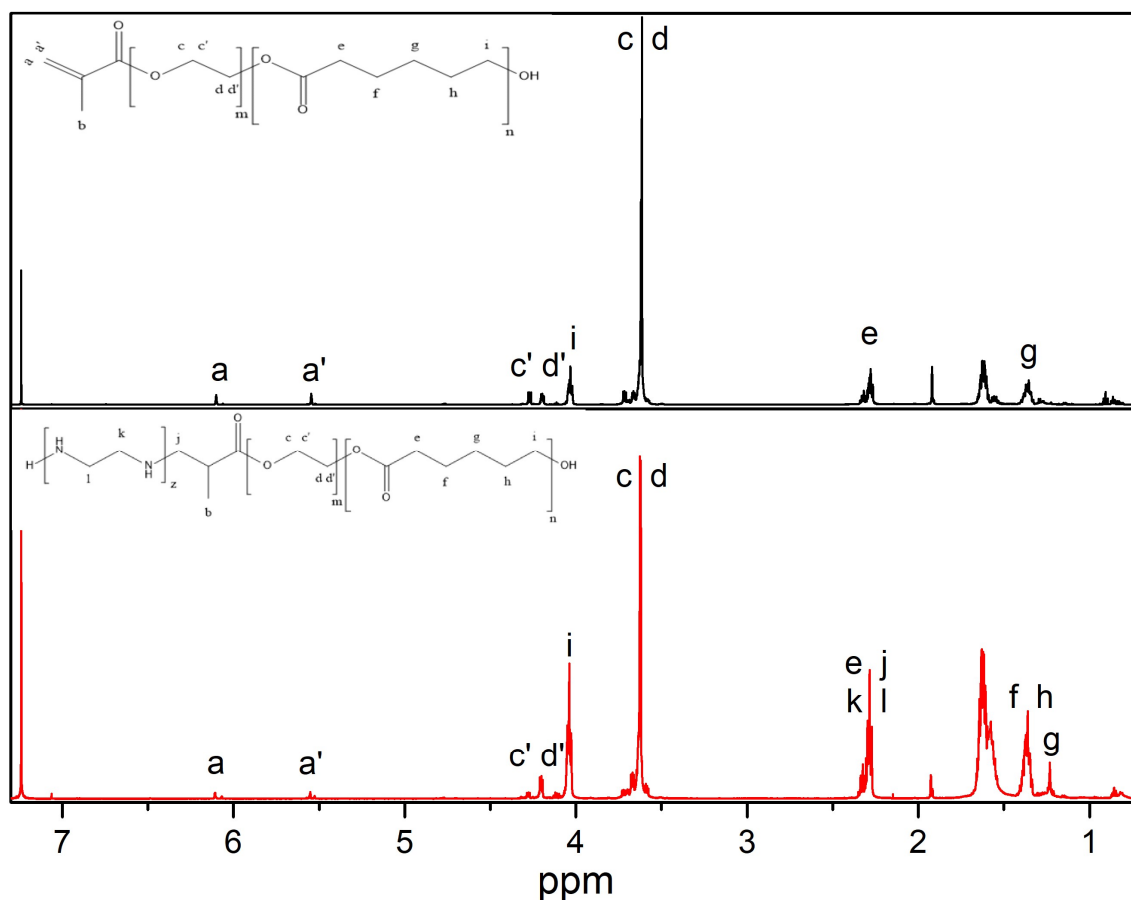
O diâmetro hidrodinâmico foi determinado utilizando um equipamento Malvern Zetasizer Nano ZS. As amostras foram preparadas dispersando o polímero em solução aquosa 0,001 mol/L de NaCl . A titulação foi adquirida variando o pH do meio de 2,5 a 10,0, medido a cada 0,7 unidade de pH.

4 RESULTADOS E DICUSSÕES

4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

A síntese do copolímero foi realizada em duas etapas. Primeiramente, foi sintetizado o PEGMA-*b*-PCL, o qual foi funcionalizado com o PEI na segunda etapa da síntese. Para a síntese do dibloco, podem ser utilizados métodos como sínteses “click”, condensação e polimerização por abertura de anel^{29, 31}. A síntese utilizada neste trabalho foi a polimerização por abertura do anel da CL pelo mecanismo de inserção por coordenação. Neste mecanismo é utilizado um composto de coordenação, com ligantes oxigenados, como catalisador. O monômero se coordena no núcleo metálico através do oxigênio da carbonila e o carbono da carbonila se liga a um oxigênio do catalisador, o que abre o anel da CL e inicia a propagação da reação³⁶. A funcionalização do dibloco com o PEI foi realizada utilizando uma adição de aza-Michael. Essa síntese se baseia em um ataque nucleofílico de uma amina, chamado de doador de Michael, em uma ligação dupla eletrodeficiente, receptor de Michael^{37, 38}. No caso deste trabalho ocorre o ataque das aminas da PEI na insaturação do carbono α do metacrilato presente no PEGMA. Dessa forma, é produzida um polímero anfifílico composto em sua porção hidrofóbica por PCL e em sua porção hidrofílica por PEGMA e PEI, sendo PEI utilizado para formar nanopartículas micelares catiônicas.

Figura 9 - Espectros de RMN dos polímeros. Em preto PEGMA-*b*-PCL; em vermelho PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL.



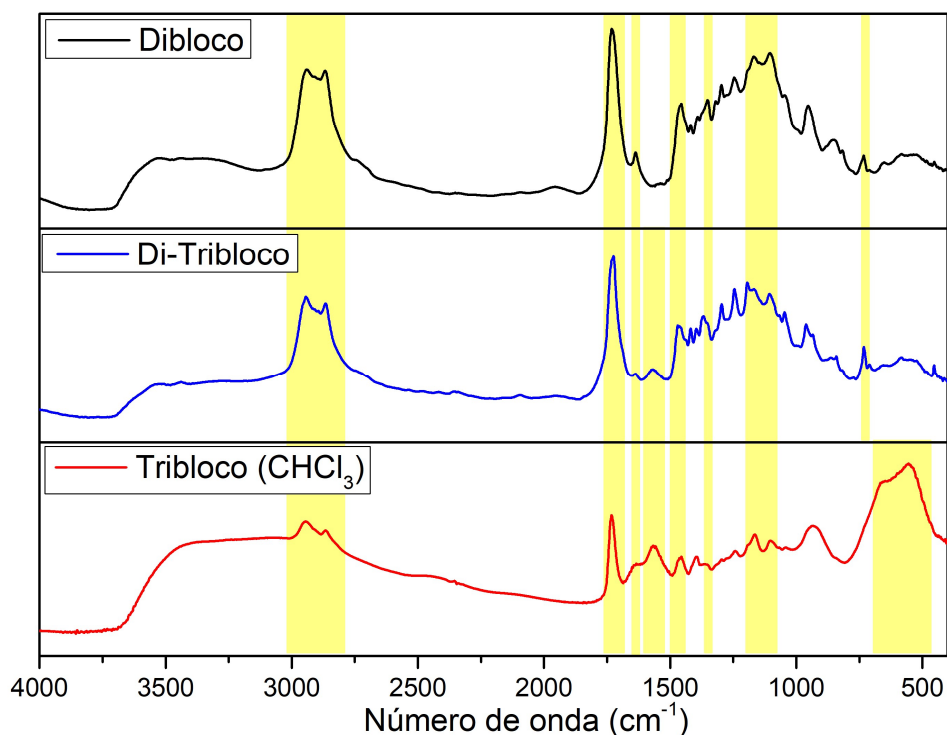
Fonte: Elaborada pelo autor.

A análise do espectro de RMN ¹H (Figura 9), obtido do produto da síntese do dibloco, confirma a formação do copolímero. Nota-se os picos pertencentes à insaturação do metacrilado, aos hidrogênios do éter e aos grupos metilenos da PCL. Foi estimada através das integrações dos picos do espectro de RMN do dibloco uma massa molar de 963,02 g/mol, confirmando que a proporção de CL no meio controla a massa. Porém, o espectro do tribloco não é conclusiva. Por ser uma poliamina é difícil notar algum pico característico, a não ser a proposta de que o deslocamento químico dos hidrogênios ligados aos carbonos ("k", "l") da PEI estão sobreposto ao pico do dibloco localizado em 2,28 ppm⁴⁰. Não há muitas diferenças entre os dois espectros, o que leva a conclusão de que o tribloco não é solúvel no CDCl₃, utilizado para preparação da amostra. Assim, este segundo espectro também representa a estrutura do dibloco que não fora completamente separado do tribloco na purificação

com clorofórmio. Contudo, além de CDCl_3 , outros solventes também foram avaliados, sem sucesso.

Por outro lado, o espectro vibracional na região do infravermelho para os polímeros é conclusivo. Fica claro pela análise do espectro do dibloco que este foi sintetizado com êxito, assim como no RMN. Facilmente se localizam as bandas de C=O das carbonilas na região de 1727 cm^{-1} , um pouco deslocada devido a conjugação com a ligação dupla no carbono α da carbonila do metacrilato que, por sua vez, tem sua sutil banda localizada em 1639 cm^{-1} e as bandas de C-O presentes entre 1164 e 1111 cm^{-1} . Após a funcionalização, percebe-se que a síntese do tribloco não é completa. Há certas diferenças entre os espectros (“Dibloco” e “Di-Tribloco”), porém sutis. Então procedeu-se com uma limpeza do produto com clorofórmio (espectro “Tribloco (CHCl_3)”) e as diferenças ficam mais evidentes. Uma banda de dobra N-H em 1568 cm^{-1} e uma banda de dobra fora do plano de N-H em 931 cm^{-1} . A banda da insaturação do metacrilato, mesmo após a limpeza com clorofórmio, não está ausente no terceiro espectro o que leva a conclusão de que os dois polímeros não foram completamente separados e corrobora com a interpretação de que o espectro de RMN do tribloco, na verdade, é outro espectro do dibloco⁴⁰.

Figura 10 - Espectro vibracional na região do infravermelho dos polímeros sintetizados. Em preto PEGMA-*b*-PCL; em vermelho PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL; em azul a mistura dos dois polímeros.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Tabela 1 - Atribuição das bandas do espectro vibracional na região do infravermelho.

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
2936 - 2860	Est. C-H sp ³
1727	Est. C=O
1639	Est. C=C
1568	Dobra N-H
1463	Dobra CH ₂
1357	Dobra CH ₃
1164, 1111	Est. C-O
931	Dobra F. do P. N-H
736	B. C. C. CH ₂
553	Est. C-Cl

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

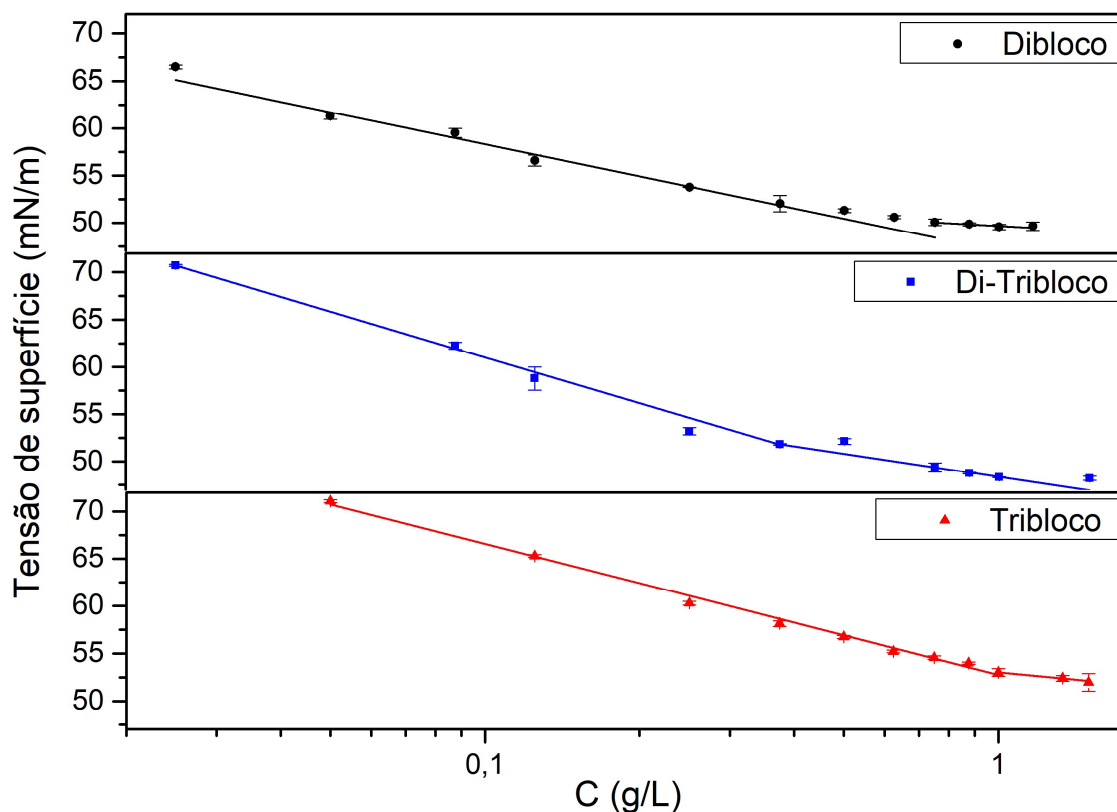
Foram realizados experimentos através de duas técnicas com o objetivo de determinar a média de massa molar dos polímeros sintetizados, porém sem sucesso. Foram elas a cromatografia por separação de tamanho (SEC) e o espalhamento de luz estático (SLS). A SEC é uma técnica de separação de espécies químicas. A separação ocorre baseado no volume hidrodinâmico das moléculas em colunas empacotadas com micropartículas porosas. Desta forma, as moléculas maiores acabam sendo excluídas dos poros e eluem mais rápido que as moléculas menores. Esta técnica se utiliza de um detector de espalhamento de luz para determinar uma população de massa molar e, assim, determinar a média de massa molar de polímeros^{42, 43}. E a determinação por SLS é realizada através do Debye plot que consiste em um gráfico baseado na equação de Rayleigh (Eq. 1), ou seja, $\frac{K.C}{R_\theta}$ por concentração, onde o ponto de intersecção (concentração igual a zero) corresponde ao inverso da média da massa molar $\left(\frac{1}{M_w}\right)$ ⁴¹. Porém, para ambas as técnicas é necessário que o polímero em questão seja minimamente liofílico, isto é, ter afinidade pelo solvente utilizado na diluição de forma que o polímero não forme agregados grandes o suficiente para que as análises não sejam possíveis. No caso da SEC foi utilizado tetrahidrofurano (THF) para diluir o tribloco, porém foi observada formação de agregados do polímero que não passariam da filtragem. Então procedeu-se com a utilização de N, N-dimetilformamida (DMF) que, a princípio, parecia ter diluído o polímero. Assim, a amostra foi filtrada e a corrida foi realizada, porém não foi possível fazer a calibração da curva por incompatibilidade dos padrões com o solvente em questão. Já para o caso da SLS, foram testados etanol, metanol, acetona e clorofórmio. Em todos os casos o tribloco não foi diluído adequadamente, formando agregados. E, por fim, para o caso da DMF no SLS, a princípio parecia que o tribloco havia sido diluído corretamente e foram preparadas cinco soluções de concentrações deferentes, porém o equipamento não obteve leitura. Submetendo as amostras a passagem de um laser, posteriormente, foi observado efeito Tyndall, ou seja, havia agregados, ainda que muito pequenos. Esta dificuldade de encontrar um solvente adequado para tais análises se deve a estrutura do tribloco contar com dois extremos: em uma extremidade a PCL, polímero hidrofóbico, e do outro, PEI, uma poliamina altamente hidrofílica. Assim, é possível que seja necessária uma mistura de solventes. Todos esses testes realizados e sem sucesso corroboram com a hipótese de que o tribloco não foi solubilizado pelo $CDCl_3$, utilizado para a caracterização estrutural do

polímero por RMN. Desta forma, o conteúdo do segundo espectro, apresentado neste trabalho, diz respeito ao dibloco, assim como o primeiro.

4.2 ESTABILIDADE COLOIDAL

Foi realizada a determinação de CMC dos polímeros para determinação da concentração na qual as micelas se formam, no meio aquoso. Para tal foi utilizado o método de gota pendente. Este método se baseia na determinação dos parâmetros de uma gota na iminência de queda através do perfil dessa gota adquirido em uma foto tirada pelo equipamento OCA 15. Estes parâmetros são, então, utilizados para o cálculo e determinação de tensão de superfície da solução polímero + água, com diferentes concentrações do polímero. Foram obtidas três curvas de tensão de superfície em função da concentração (g/L), uma para cada amostra. As CMC dos sistemas poliméricos foram: 0,482 g/L para o dibloco, 0,371 g/L para o produto da segunda síntese e 0,930 g/L para o tribloco. Houve grande diferença em cada sistema. Sendo a mistura entre os dois polímeros o sistema com maior atividade na superfície e o tribloco, o com menor. A maior CMC, comparando com os outros dois valores, se dá devido a proporção hidrofílica da cadeia, devido a adição da PEI. A interação entre os dois polímeros favorece a formação das micelas, devido a menor CMC.

Figura 11 - Determinação da CMC do dibloco (em preto), do produto da síntese (Di-Tribloco, em azul) e do tribloco (em vermelho), a partir da variação de tensão de superfície em relação a concentração de polímero.

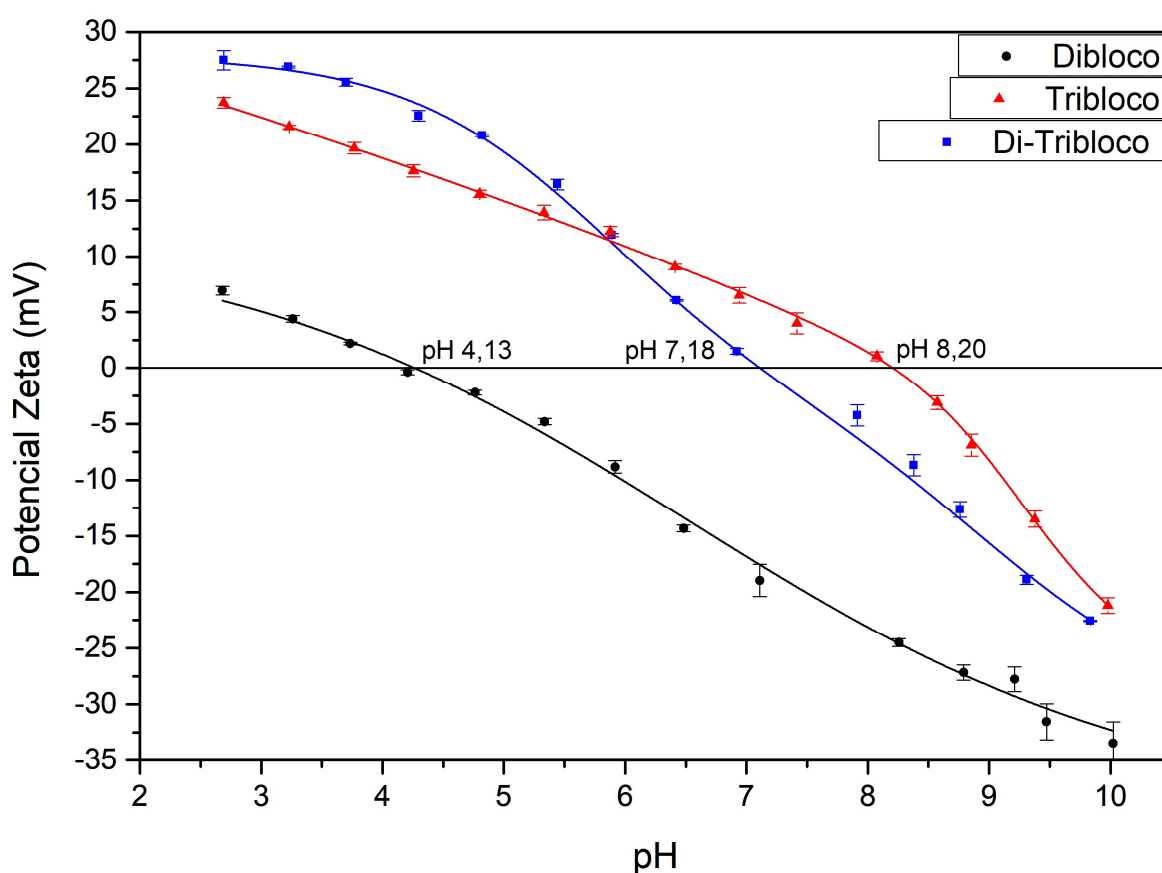


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Para medição da carga de superfície da partícula, foi realizada uma titulação de potencial- ζ para determinar o comportamento das cargas de superfície das micelas variando o pH do meio a cada 0,5 unidade de pH, na faixa de 2,5 a 10,0. Essa técnica se baseia na medição da mobilidade eletroforética das partículas quando o equipamento varia o sentido da corrente a qual o meio é submetido. Foi obtida a curva apresentada na Figura 12. Naturalmente, era esperado que em solução aquosa a adição de um polímero hidrofílico catiônico à estrutura fosse alterar consideravelmente o perfil de potencial- ζ das partículas, tornando-as catiônicas na faixa de pH próximo ao pH oral: 4,5 (aproximadamente o mínimo alcançado por biofilmes cariogênicos) a 7,2¹⁶. Além disso, o ponto isoelétrico do tribloco, e da mistura entre os polímeros, ocorre em um pH consideravelmente mais alto que o determinado para o dibloco, 8,20, 7,18 e 4,13, respectivamente. O ponto isoelétrico é o valor de pH no qual uma determinada molécula ou partícula tem sua carga resultante igual a zero. Neste sentido, o resultado obtido foi satisfatório, de tal forma que o potencial- ζ do dibloco

nesta faixa se apresenta aniônico e com a adição da PEI oscila de 17,02 mV a 5,75 mV, positivos. A mistura entre os dois polímeros também apresenta um resultado adequado, visto que este sistema é catiônico na maior parte da faixa citada. A partir deste resultado, optou-se por realizar as análises seguintes com a mistura entre os dois polímeros, devido à grande perda de rendimento da síntese na execução da limpeza com clorofórmio.

Figura 12 - Variação do potencial- ζ das micelas em função do pH. Em preto PEGMA-*b*-PCL; em vermelho PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL; em azul a mistura dos dois polímeros.

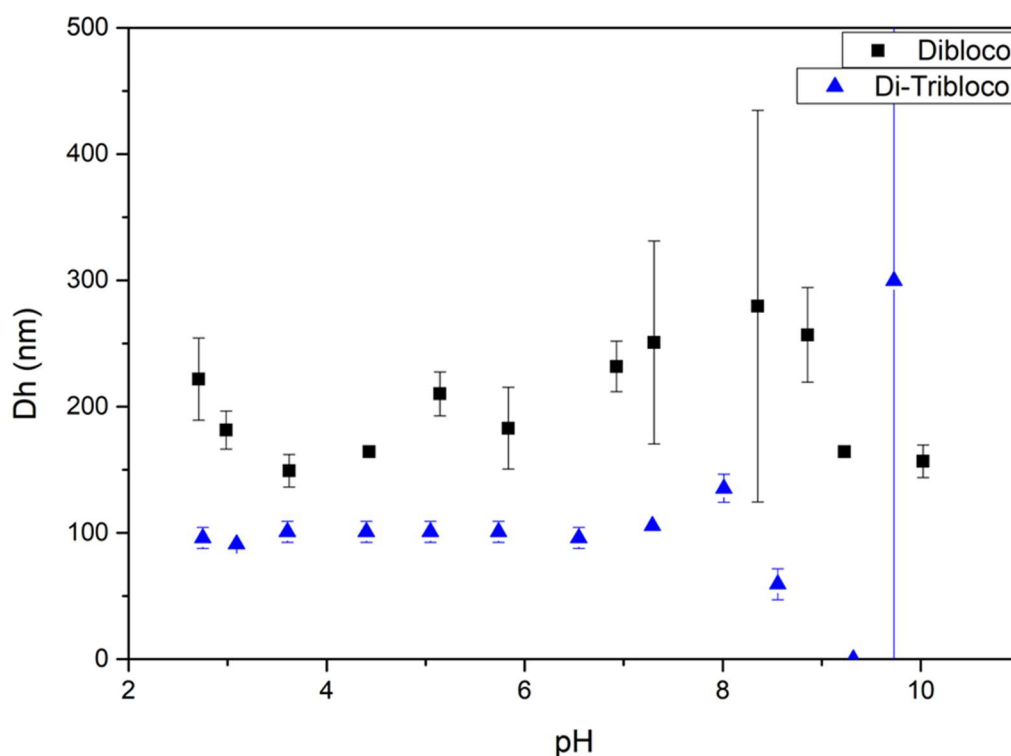


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Foi, também, realizada uma titulação variando o diâmetro hidrodinâmico das micelas dispersas. É uma análise de espalhamento de luz dinâmico (DLS) na qual é medida a intensidade de luz espalhada pelas partículas em movimento Browniano. Deste dado, gerado um gráfico chamado função de correlação no qual é medido o tempo que determinada partícula demorou para parar de ser detectada e, a partir da função de correlação é obtida uma população de diâmetro hidrodinâmico da partícula, já que partículas menores se movimentam mais rápido que as maiores, por movimento

Browniano. O equipamento utilizado tem dois ângulos de detecção e na titulação o ângulo utilizado foi o de $173^{\circ 41'}$, ângulo recomendado pelo fabricante. Foi medido o diâmetro hidrodinâmico das partículas de dibloco variando em torno de 200 nm e da mistura entre os dois, 100 nm. Isto se deve a maior repulsão eletrostática gerada pela carga de superfície mais intensa do segundo devido a presença da PEI na estrutura. A varredura de pH foi feita de 2,5 a 10,0. Nota-se que para ambas as amostras, assim que o pH do meio ultrapassa o ponto isoelétrico de cada sistema polimérico (4,13 para o “Dibloco” e 7,18 para o Di-Tribloco) a dispersão perde a estabilidade coloidal, visto que, há grande variação nos valores de diâmetro hidrodinâmico e aumento expressivo do desvio padrão das partículas. Isto pode ser explicado pela Teoria DLVO de estabilidade coloidal. Esta teoria descreve a ação das forças repulsivas e atrativas entre as partículas durante colisões. Desta forma, devido às partículas no sistema terem carga resultante zero, ou muito próxima a zero, durante a titulação, as interações atrativas de Van der Waals superaram as repulsões eletrostáticas entre as partículas que colidiram e elas se agregaram fazendo com que a estabilidade coloidal fosse perdida.

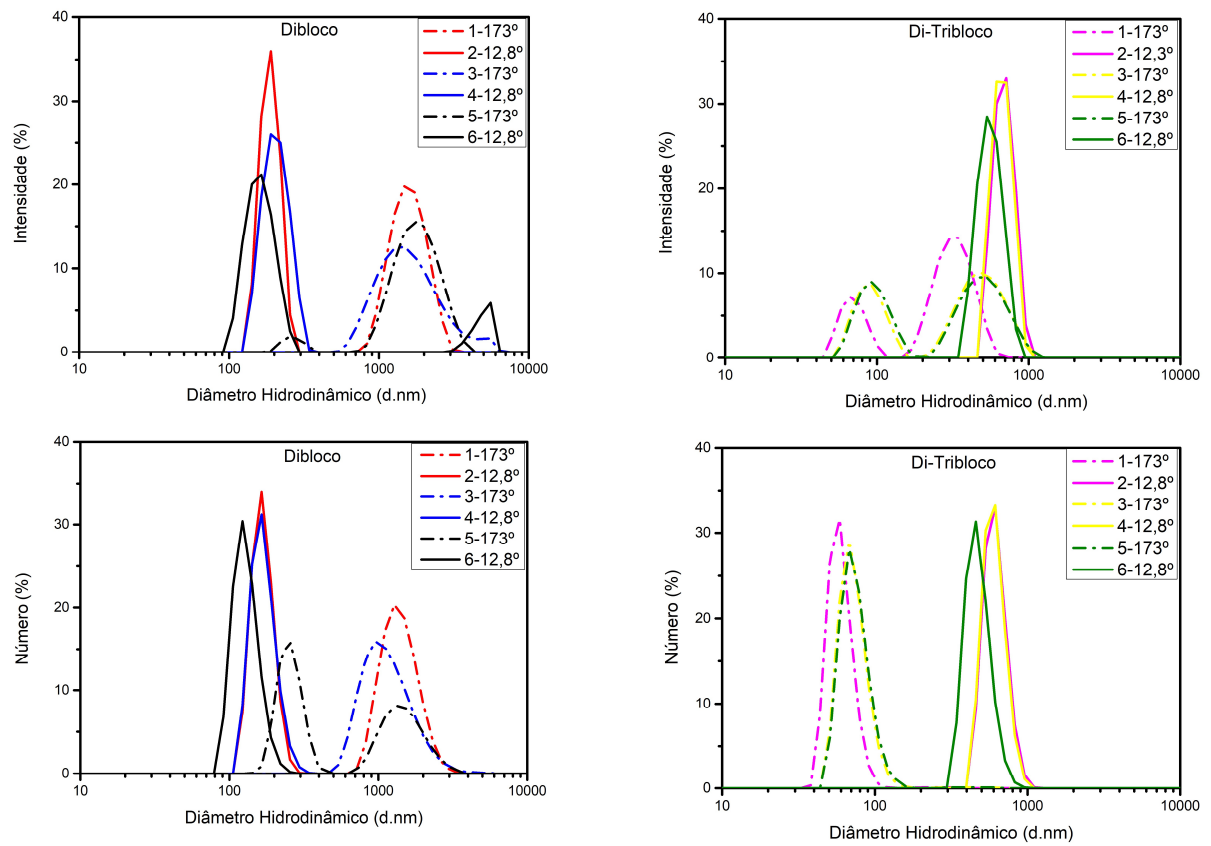
Figura 13 - Variação do diâmetro hidrodinâmico em função do pH. Em preto PEGMA-*b*-PCL; em vermelho PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL; em azul a mistura dos dois polímeros.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Na Figura 14 são dispostos quatro gráficos de diâmetro hidrodinâmico. Dois deles são gráficos de intensidade (%) e os outros dois de número (%), um para cada sistema polimérico. “Intensidade” e “número” são dois tipos diferentes de distribuição de diâmetro hidrodinâmico. O primeiro, intensidade, diz respeito à intensidade de luz espalhada pelas partículas. Desta forma, como partículas maiores espalham mais luz que as menores elas terão maior proporção nas distribuições por intensidade. Já a distribuição por número busca representar as populações na proporção em que elas se apresentam em solução, em outras palavras, se há uma partícula de tamanho “x” e uma outra de tamanho “20x”, ambas terão as mesmas proporções nas populações representadas no gráfico⁴¹. Observando os gráficos abaixo, pode-se notar que os dois ângulos analisados apresentam populações de diâmetro hidrodinâmico. Isto é uma evidência de que as partículas que se formam neste sistema são não esféricas, visto que as intensidades de luz espalhadas pelas partículas diferem em cada ângulo. Contudo, esta evidência não é conclusiva. A observação das distribuições levanta algumas dúvidas sobre a presença de populações na distribuição por intensidade e ausência dessas populações na distribuição por número. Como explicado acima, a distribuição por intensidade leva em consideração a intensidade de luz espalhada pelas partículas, desta forma, como partículas maiores espalham mais luz que as menores, populações de maiores diâmetros hidrodinâmicos são mais evidenciadas. Assim, as populações detectadas no ângulo de 173° no gráfico “Di-Tribloco” por intensidade, que se misturam com as populações detectadas no ângulo de 12,8°, poderiam ser apenas algumas poucas bolhas de ar presente na hora da análise, visto que não são verificadas na distribuição por número.

Figura 14 - Diâmetro hidrodinâmico das micelas formadas pelos respectivos polímeros medidos nos ângulos de detecção de 12,8° e 173°.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

5 CONCLUSÃO

O trabalho se concentrou na síntese, caracterização estrutural e coloidal do polímero PEI-*b*-PEGMA-*b*-PCL. As sínteses foram confirmadas pelas análises das técnicas de RMN e, principalmente, FTIR. Os polímeros foram analisados em um goniômetro para determinação de suas CMC através da variação da tensão de superfície da água em função da concentração. Os sistemas apresentaram CMC de 0,482 g/L para o dibloco, 0,371 g/L para a mistura entre os dois polímeros e 0,930 g/L para o tribloco. O maior CMC determinada para o tribloco se deve a sua maior hidrofilicidade contando com a PEI em sua porção hidrofílica, também. A adição da poliamina na estrutura do polímero alterou consideravelmente o comportamento das micelas no sistema coloidal. Por ser um polímero catiônico e se situar na porção hidrofílica da cadeia, a PEI confere às partículas carga positiva na faixa de pH de 4,5 a 7,2. Esta carga mais intensa também garante às partículas maior repulsão eletrostática entre elas, aumentando a estabilidade coloidal do sistema por prevenir que as micelas se agreguem. Por causa da maior carga e da maior cadeia hidrofílica, foi observado que as micelas formadas pelo tribloco apresentam menor diâmetro hidrodinâmico, em torno de 100 nm enquanto o dibloco formou partículas maiores que 200 nm. Ademais, há evidências que as partículas formadas são não esféricas devido as populações de dois diâmetros hidrodinâmicos médios diferentes determinadas em em dois ângulos diferentes, tal interpretação se deve às interações construtivas e destrutivas entre os feixes de luz espalhada detectada pelo equipamento que podem ser causadas pelas diferentes distâncias percorridas por essa luz espalhada. Por fim, a baixíssima solubilidade do polímero sintetizado dificultou sua análise através das técnicas SEC, SLS e RMN, desta forma, não foi possível medir a média de massa molar do polímero tribloco e obter informações mais detalhadas acerca de sua estrutura molecular.

6 PROPOSTAS FUTURAS

- Estudo de incorporação e liberação de fármaco dos dois polímeros.
- Estudo aprofundado da morfologia das micelas.
- Estudo térmico dos polímeros.
- Estudo de liberação in vitro.

REFERÊNCIAS

- ¹**Oral health.** Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>>. Acesso em: 31 outubro. 2023.
- ²PERES, M. A. *et al.* Oral diseases: a global public health challenge. **The Lancet**, v. 394, n. 10194, p. 249–260, 20 jul. 2019.
- ³BERNABÉ, E.; MASOOD, M.; VUJICIC, M. The impact of out-of-pocket payments for dental care on household finances in low and middle-income countries. **BMC Public Health**, v. 17, n. 1, p. 109, 23 jan. 2017.
- ⁴PANARIELLO, B. H. D. *et al.* Advances and Challenges in Oral Biofilm Control. **Current Oral Health Reports**, v. 4, n. 1, p. 29–33, 1 mar. 2017.
- ⁵LIU, Y. *et al.* Nanotechnology-based antimicrobials and delivery systems for biofilm-infection control. **Chemical Society Reviews**, v. 48, n. 2, p. 428–446, 2019.
- ⁶ROY, R. *et al.* Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. **Virulence**, v. 9, n. 1, p. 522–554, 31 dez. 2018.
- ⁷BOLES, B. R.; HORSWILL, A. R. agr-Mediated Dispersal of *Staphylococcus aureus* Biofilms. **PLOS Pathogens**, v. 4, n. 4, p. e1000052, 25 abr. 2008.
- ⁸FLEMMING, H.-C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 623–633, set. 2010.
- ⁹CUGINI, C. *et al.* The Role of Exopolysaccharides in Oral Biofilms. **Journal of Dental Research**, v. 98, n. 7, p. 739–745, 1 jul. 2019.
- ¹⁰YIN, W. *et al.* Biofilms: The Microbial “Protective Clothing” in Extreme Environments. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 14, jul. 2019.
- ¹¹SUGANO, M. *et al.* Potential effect of cationic liposomes on interactions with oral bacterial cells and biofilms. **Journal of Liposome Research**, v. 26, n. 2, p. 156–162, 2 abr. 2016.
- ¹²MALAEKEH-NIKOUEI, B. *et al.* The role of nanotechnology in combating biofilm-based antibiotic resistance. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 60, p. 101880, 1 dez. 2020.
- ¹³DONLAN, R. M. Biofilm Formation: A Clinically Relevant Microbiological Process. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, n. 8, p. 1387–1392, 15 out. 2001.
- ¹⁴HOREV, B. *et al.* pH-Activated Nanoparticles for Controlled Topical Delivery of Farnesol To Disrupt Oral Biofilm Virulence. **ACS Nano**, v. 9, n. 3, p. 2390–2404, 24 mar. 2015.
- ¹⁵ALNUAIMI, A. *et al.* Candida virulence and ethanol-derived acetaldehyde production in oral cancer and non-cancer subjects. **Oral Diseases**, v. 22, n. 8, p. 805–814, 2016.
- ¹⁶KOZIEL, J.; MYDEL, P.; POTEPA, J. The Link Between Periodontal Disease and Rheumatoid Arthritis: An Updated Review. **Current Rheumatology Reports**, v. 16, n. 3, p. 408, 24 jan. 2014.

- ¹⁷DESVARIEUX, M. *et al.* Periodontal Microbiota and Carotid Intima-Media Thickness. **Circulation**, v. 111, n. 5, p. 576–582, 8 fev. 2005.
- ¹⁸HAJISHENGALLIS, G.; CHAVAKIS, T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. **Nature Reviews Immunology**, v. 21, n. 7, p. 426–440, jul. 2021.
- ¹⁹MILADI, K. *et al.* Drug carriers in osteoporosis: Preparation, drug encapsulation and applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 445, n. 1, p. 181–195, 10 mar. 2013.
- ²⁰GHEZZI, M. *et al.* Polymeric micelles in drug delivery: An insight of the techniques for their characterization and assessment in biorelevant conditions. **Journal of Controlled Release**, v. 332, p. 312–336, 10 abr. 2021.
- ²¹RAINA, N. *et al.* Polysaccharide-based hydrogels: New insights and futuristic prospects in wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 223, p. 1586–1603, 31 dez. 2022.
- ²²BRANDT, J. V. *et al.* Synthesis of core@shell nanoparticles functionalized with folic acid-modified PCL-co-PEGMA copolymer for methotrexate delivery. **Nano-Structures & Nano-Objects**, v. 25, p. 100675, 1 fev. 2021.
- ²³ZIELIŃSKA, A. *et al.* Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. **Molecules**, v. 25, n. 16, p. 3731, jan. 2020.
- ²⁴MAKABENTA, J. M. V. *et al.* Nanomaterial-based therapeutics for antibiotic-resistant bacterial infections. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 23–36, jan. 2021.
- ²⁵COSGROVE, T. **Colloid Science Principles, methods and applications**. 2^a Ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd. 2010
- ²⁶BRANDT, J. V. *et al.* Synthesis and colloidal characterization of folic acid-modified PEG-*b*-PCL Micelles for methotrexate delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 177, p. 228–234, 1 maio 2019.
- ²⁷IUPAC. **Compêndio de Nomenclatura Macromolecular**. Rio de Janeiro, E-Papers, 2002.
- ²⁸SHAW, D. **Introdução à Química dos Colóides e de Superfícies**. São Paulo: Edgard Blücher. 1975.
- ²⁹LABET, M.; THIELEMANS, W. Synthesis of polycaprolactone: a review. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 12, p. 3484–3504, 17 nov. 2009.
- ³⁰DASH, T. K.; KONKIMALLA, V. B. Poly-ε-caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review. **Journal of Controlled Release**, v. 158, n. 1, p. 15–33, 28 fev. 2012.
- ³¹GROSSEN, P. *et al.* PEG-PCL-based nanomedicines: A biodegradable drug delivery system and its application. **Journal of Controlled Release**, v. 260, p. 46–60, 28 ago. 2017.

- ³²VIALI, W. R. *et al.* PEGylation of SPIONs by polycondensation reactions: a new strategy to improve colloidal stability in biological media. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 15, n. 8, p. 1824, 12 jul. 2013.
- ³³ABUCHOWSKI, A. *et al.* Alteration of immunological properties of bovine serum albumin by covalent attachment of polyethylene glycol. **Journal of Biological Chemistry**, v. 252, n. 11, p. 3578–3581, 10 jun. 1977.
- ³⁴GRAHAM SOLOMONS, T. W. **Química Orgânica – Vol. 2**. 12ª Ed. Rio de Janeiro: GEN/LTC. 2023. 322 p.
- ³⁵LI, J. *et al.* Interfacial properties and micellization of triblock poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone)-polyethyleneimine copolymers. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 10, n. 6, p. 1122–1133, 1 jun. 2020.
- ³⁶CHANDA, M. **Introduction to Polymer Science and Chemistry: A Problem Solving Approach**. Boca Raton: CRC Press. 2006. 622 p.
- ³⁷GENEST, A. *et al.* The aza-Michael reaction as an alternative strategy to generate advanced silicon-based (macro)molecules and materials. **Progress in Polymer Science**, v. 72, p. 61–110, 1 set. 2017.
- ³⁸LIU, C.-Y.; HUANG, C.-J. Functionalization of Polydopamine via the Aza-Michael Reaction for Antimicrobial Interfaces. **Langmuir**, v. 32, n. 19, p. 5019–5028, 17 maio 2016.
- ³⁹PIAZZA, R. D. *et al.* mPEG-co-PCL nanoparticles: The influence of hydrophobic segment on methotrexate drug delivery. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 555, p. 142–149, 20 out. 2018.
- ⁴⁰PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à Espectroscopia**. 2ª Ed. São Paulo: Cengage Learning. 2016.
- ⁴¹MALVERN. **Zetasizer Nano Series: User Manual**. Worcestershire: Malvern Instruments Ltd. 2013. Disponível em: <https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Malvern%20Zetasizer%20ZS%20DLS%20user%20manual.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2023
- ⁴²MALVERN. **Viscotek 270 Dual Detector**. Worcestershire: Malvern Instruments Ltd. 2012
- ⁴³MALVERN. **SEC-MALS 20 Multi-Angle Light Scattering Detector User Manual**. Worcestershire: Malvern Instruments Ltd. 2014.