

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CARLOS EDUARDO LUNELLI

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE POLÍMEROS A PARTIR DE ÓLEOS
VEGETAIS E POLIÉSTERES BIODEGRADÁVEIS PARA A ENCAPSULAÇÃO DE
ATIVOS COM APLICAÇÃO NA TERAPÊUTICA VETERINÁRIA E SANIDADE
ANIMAL

CURITIBA

2018

CARLOS EDUARDO LUNELLI

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE POLÍMEROS A PARTIR DE ÓLEOS
VEGETAIS E POLIÉSTERES BIODEGRADÁVEIS PARA A ENCAPSULAÇÃO DE
ATIVOS COM APLICAÇÃO NA TERAPÊUTICA VETERINÁRIA E SANIDADE
ANIMAL

Tese de doutorado apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química ao Programa de Pós-Graduação em Química – Área de concentração Química Orgânica, do Departamento de Química, Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Dr^a Sônia Faria Zawadzki

CURITIBA

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

L962S Lunelli, Carlos Eduardo

Síntese e caracterização de polímeros a partir de óleos vegetais e poliésteres biodegradáveis para a encapsulação de ativos com aplicação na terapêutica veterinária e sanidade animal [recurso eletrônico] / Carlos Eduardo Lunelli, 2018.

Tese (doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química – Área de concentração Química Orgânica, do Departamento de Química, Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná.
Orientadora: Profa. Dr^a Sônia Faria Zawadzki

1. Polímeros. 2. Biodegradação. 3. Óleo vegetal. I. Universidade Federal do Paraná. II. Zawadzki, Sônia Faria. III. Título

CDD 668.4239

Bibliotecária: Vilma Machado CRB9/1563

TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -
40001016026P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **CARLOS EDUARDO LUNELLI** intitulada: **Síntese e caracterização de polímeros a partir de óleos vegetais e poliésteres biodegradáveis para a encapsulação de ativos com aplicação na terapêutica veterinária e sanidade animal**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 19 de Dezembro de 2018.

SÔNIA FÁRIA ZAWADZKI
Presidente da Banca Examinadora

IZABEL CRISTINA RIEGEL VIDOTTI MIYATA
Avaliador Interno (UFPR)

RONILSON VASCONCELOS BARBOSA
Avaliador Interno (UFPR)

LUÍS ANTÔNIO PINHEIRO
Avaliador Externo (UEPG)

MARCELO BELTRÃO MOLENTO
Avaliador Externo (UFPR/DMV)

*Dedico este trabalho para as pessoas que
Considero as mais especiais em minha vida:
Meus anjos de luz,
Meu irmão Marco Antonio Lunelli (in memorian),
Minha mãe Elfi Tereza Lunelli (in memorian),
Minha esposa Thaisa Mariano Gomes
E às futuras gerações, meus filhos, que esta vida há de me conceder.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter sido meu pilar de sustentação para conseguir enfrentar as inúmeras perdas que tive ao longo de meu caminho.

Agradeço a todos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, seja através do auxílio com análises realizadas, suporte científico ou muitas vezes ensinando uma nova maneira de pensar.

Agradeço, em especial, à Prof^ª Dr^ª Sônia Faria Zawadzki pela oportunidade, confiança, orientação, amizade, paciência e ensinamentos durante os quatro anos deste doutorado. Saiba que você é uma das poucas pessoas que tive o privilégio de conhecer nesta vida e que o espaço que ocupa em meu coração é um espaço de mãe!

Aos professores titulares desta banca: Prof. Dr. Luís Antonio Pinheiro (UEPG), Prof. Dr. Marcelo Beltrão Molento (UFPR), Prof. Dr. Ronilson Vasconcelos Barbosa (UFPR), Prof^ª Dr^ª Izabel Cristina Riegel Vidotti Miyata (UFPR) por aceitarem prontamente a participar da banca examinadora e aos suplentes: Prof. Dr^ª Claudia Eliana Marino (UFPR), Prof. Dr. Paulo Vitor Farago (UEPG), Prof. Dr. Claudiney Soares Cordeiro (UFPR) e Prof. Dr. Francisco de Assis Marque (UFPR) por gentilmente aceitar o convite.

Agradeço imensamente à parceria com o NUPPLAMED (Núcleo Paranaense de Pesquisa Científica e Educacional de Plantas Mediciniais) em nome das professoras: Dr^ª Selma Faria Zawadzki-Baggio e Juliana Bello Baron Maurer.

Aos Laboratórios de RMN, Infravermelho, e LAMAP – Laboratório de Materiais Poliméricos do Departamento de Química e à Universidade Federal do Paraná por ceder a infraestrutura pela realização de análises para caracterização de materiais.

Ao CME - Centro de microscopia eletrônica da UFPR.

Aos amigos e colegas do LAMAP: Luana Flores, Bianca Padilha, Luiza Araújo Abou-Rejaili, Duanne Scremin Maciel e MSc. Bruno Henrique Latmann pelos momentos de descontração no laboratório ou nos momentos que precisávamos unir esforços.

Às amigas Dr^ª Soraia Zaioncz, Dr^ª Simone Adriane Silva e Dr^ª Mara Cristina Damolin pelo incentivo e proximidade nos grandes momentos de minha vida.

Àquelas que simbolizam a amizade verdadeira e indissolúvel: Ivete da Silva Costa, Ilza Rosina de Castro e Maria Arlete Massuquetto.

À minha família que hoje não está mais comigo, mas representa o cerne de minha existência: minha mãe Elfi Tereza Lunelli (*in memoriam*), meu irmão Marco Antonio Lunelli (*in memoriam*) por acreditarem em meu potencial e incentivarem sempre minhas escolhas.

Àquela que representa o verdadeiro e incondicional amor: minha linda esposa Thaisa Mariano Gomes. Agradeço a ti, meu grande amor, o apoio, as conquistas, o incentivo, o sorriso e o exemplo de humildade e humanidade que és. Sou imensamente feliz por tê-la em minha vida e em meu coração.

À minha tia Lurdinha (Maria de Lourdes Lunelli) por estar ao meu lado, na qualidade de mãe, nos momentos que mais precisei de um conselho.

E embora ainda não façam parte desta vida, dedico este trabalho aos filhos que ainda aguardo, pois um dia espero sentar lado a lado e contar-lhes um pouco do que aprendi e deixei para as gerações futuras.

*“Faça as coisas o mais simples que você puder,
Porém não se restrinja às mais simples ”*

Albert Einstein

RESUMO

Poli(caprolactona) (PCL) e poli(lactídeo) (PLAC) são polímeros biodegradáveis, biocompatíveis, bioabsorvíveis e de interesse nas áreas: ambiental, médica, farmacológica e veterinária. Estes materiais, assim como óleos vegetais que, considerados fontes renováveis, foram utilizados para a síntese de copolímeros com posterior confecção de partículas contendo compostos modelo com ação antiparasitária aplicados à veterinária. Inicialmente foi realizada a reação de transesterificação no óleo de milho (OMI), com catálise alcalina em dietilenoglicol seguida de reação de epoxidação conduzida em ácido fórmico e peróxido de hidrogênio na razão molar de 3:1:1,5 (ácido: mol insaturação: peróxido de hidrogênio). Os produtos foram caracterizados por cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C , índice de acidez, calorimetria exploratória diferencial (DSC) e reologia. Os biopolímeros PCL e PLAC, bem como os copolímeros obtidos a partir de óleos vegetais modificados foram sintetizados, caracterizados e empregados na encapsulação de compostos com potencial controle antiparasitário de ruminantes. A emulsão simples seguida de evaporação do solvente orgânico foi a metodologia aplicada no preparo das partículas. Dentre as técnicas utilizadas na caracterização dos materiais obtidos, foi empregada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para confirmar tamanho e forma das partículas. Estudos de liberação *in vitro* foram realizados por espectroscopia no ultravioleta visível (UV-VIS), bem como os compostos modelo: ivermectina, quercetina e rutina foi . Os resultados tais como: modificação no comportamento térmico das partículas, comparadas aos polímeros puros, bandas de absorção dos produtos observadas via FTIR, tempos de retenção distintos, obtidos via CLAE quando comparados materiais de partida e produtos obtidos, concentração crescente dos ativos nos estudos de liberação são alguns dos resultados que confirmaram que os polímeros foram obtidos e que os ativos com ação antiparasitária foram encapsulados e detectados ao serem submetidos a testes de liberação.

Palavras-chave: PLAC, PCL, óleo vegetal, copolímero, antiparasitário.

ABSTRACT

Poly(caprolactone) (PCL) and poly(lactide) (PLAC) are biodegradable, biocompatible, bioabsorbable polymers of interest in the environmental, medical, pharmacological and veterinary fields. These materials, as well as vegetable oils which, considered as renewable sources, were used for the synthesis of copolymers with subsequent confection of particles containing antiparasitary model compounds applied to veterinary medicine. The reaction was carried out in the oil of corn (OMI), with alkaline catalysis in diethyleneglycol followed by epoxidation reaction conducted in formic acid and hydrogen peroxide in molar ratio of 3:1:1,5 (acid: mol unsaturation: hydrogen peroxide). The products were characterized by high performance liquid chromatography (HPLC), infrared spectroscopy (FTIR), ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR), acidity index, differential scanning calorimetry (DSC) and rheology. PCL and PLAC biopolymers as well as copolymers obtained from modified vegetable oils were synthesized, characterized and used in the encapsulation of compounds with potential antiparasitary control of ruminants. The simple emulsion followed by evaporation of the organic solvent was the methodology applied in the preparation of the particles. Among the techniques used to characterize the obtained materials, scanning electron microscopy (SEM) was used to confirm particle size and shape. In vitro release studies were performed by visible ultraviolet (UV-VIS) spectroscopy, as well as the model compounds: ivermectin, quercetin and rutin. Results such as: modification in the thermal behavior of the particles, compared to the pure polymers, absorption bands of the products observed via FTIR, different retention times, obtained by HPLC when comparing starting materials and products obtained, increasing concentration of the active in the studies of release are some of the results that confirmed that the polymers were obtained and that the active agents with antiparasitary action were encapsulated and detected when undergoing release tests.

Key-words: PLAC, PCL, vegetable oils, copolymers, antiparasitary.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	REPRESENTAÇÃO QUÍMICA DO TRIGLICERÍDEO [11].	23
FIGURA 2 -	ESTRUTURA QUÍMICA DO ÓLEO DE RÍCINO [15].	24
FIGURA 3 -	REPRESENTAÇÃO GENÉRICA DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS COM ÁLCOOL, FORNECENDO ÉSTER E GLICEROL [29].	28
FIGURA 4 -	MECANISMO PROPOSTO PARA TRANSESTERIFICAÇÃO COM CATÁLISE ALCALINA, ONDE R_2 E R_3 SÃO AS CADEIAS DOS ÁCIDOS GRAXOS E R_1 A CADEIA ALQUÍDICA DO ÁLCOOL [29].	28
FIGURA 5 -	MECANISMO PROPOSTO PARA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS EM MEIO ÁCIDO. R_2 E R_3 SÃO AS CADEIAS DOS ÁCIDOS GRAXOS E R_1 A CADEIA ALQUÍDICA DO ÁLCOOL [29].	29
FIGURA 6 -	REPRESENTAÇÃO GENÉRICA DAS REAÇÕES DE HIDROFORMILAÇÃO, OZONÓLISE E EPOXIDAÇÃO [33].	29
FIGURA 7 -	PROPOSTA DE MECANISMO DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO ENTRE ÓLEO E DEG [37].	31
FIGURA 8 -	ESTRUTURA QUÍMICA DO ANEL DE EPÓXI [39].	32
FIGURA 9 -	REPRESENTAÇÃO DA FORMAÇÃO DO PERÁCIDO [42].	33
FIGURA 10 -	REPRESENTAÇÃO DE FORMAÇÃO DO EPÓXIDO [45].	34
FIGURA 11 -	ESTRUTURA QUÍMICA DA IVERMECTINA [53].	38
FIGURA 12 -	ESTRUTURA QUÍMICA DA QUERCETINA [54].	38
FIGURA 13 -	ESTRUTURA QUÍMICA DA RUTINA [55].	39
FIGURA 14 -	BALÃO ONDE OCORREU A REAÇÃO DE EPOXIDAÇÃO. FASE SUPERIOR CONTÉM O ÓLEO DE MILHO E A FASE INFERIOR, UMA MISTURA DE ÁCIDO FÓRMICO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO.	50
FIGURA 15 -	ESQUEMA DE OBTENÇÃO DO POLÍMERO PLAC A PARTIR DO LACTÍDEO [87].	50
FIGURA 16 -	ASPECTO DO PRODUTO RESULTANTE DA COPOLIMERIZAÇÃO ENTRE O POLIOL DO ÓLEO DE MILHO E O PLAC.	51
FIGURA 17 -	ESQUEMA DE POLIMERIZAÇÃO DA ϵ -CAPROLACTONA [73].	52

FIGURA 18 -	SISTEMA DE AGITAÇÃO MECÂNICA APLICADA PARA A ENCAPSULAÇÃO DOS PRINCÍPIOS ATIVOS.	53
FIGURA 19 -	ESQUEMA DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DO ÓLEO DE MILHO COM O DIETILENOGLICOL.....	59
FIGURA 20 -	ASPECTO DOS PRODUTOS OBTIDOS ATRAVÉS DA TRANSESTERIFICAÇÃO.....	60
FIGURA 21 -	ESPECTROS DE FTIR: (a) ÓLEO DE MILHO PURO (OMIP), (b) OMT1, (c) OMT2 e (d) OMT3.	61
FIGURA 22 -	(a) ESPECTRO ¹ H REFERENTE AO ÓLEO DE MILHO PURO (OMIP).....	64
FIGURA 23 -	(a) ESPECTRO ¹³ C REFERENTE AO ÓLEO DE MILHO PURO (OMIP).....	66
FIGURA 24 –	CURVAS DE DSC PARA O ÓLEO DE MILHO PURO (24a) E ÓLEO DE MILHO TRANSESTERIFICADO OMT2 (24b)	68
FIGURA 25 –	CROMATOGRAMAS OBTIDOS VIA CLAE PARA ÓLEO DE MILHO PURO E DERIVADOS TRANSESTERIFICADOS.	69
FIGURA 26 –	PROPOSTA DE ESTRUTURA DOS PRODUTOS: PRINCIPAL (PP) E SECUNDÁRIO (PS) OBTIDOS VIA TRANSESTERIFICAÇÃO ENTRE ÓLEO DE MILHO E DEG.....	71
FIGURA 27 –	CURVAS DA VARIAÇÃO DA VISCOSIDADE EM FUNÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO OBTIDAS PARA OMIP E OMT2.	72
FIGURA 28 -	ESQUEMA DA REAÇÃO DE EPOXIDAÇÃO DO ÓLEO DE MILHO TRANSESTERIFICADO COM O PÉRACIDO FÓRMICO PARA OBTENÇÃO DO POLIOL.....	74
FIGURA 29 –	ESPECTROS FTIR DOS PRODUTOS TRANSESTERIFICADOS. OMTE 1 (a); OMTE2 (b); OMTE3 (c)	75
FIGURA 30 -	ESPECTRO DE ¹ H RMN DO PRODUTO TRANSESTERIFICADO-EPOXIDADO OMTE2.....	77
FIGURA 31 -	ESPECTRO DE ¹³ C RMN DO PRODUTO TRANSESTERIFICADO-EPOXIDADO OMTE2.....	78
FIGURA 32 –	CURVA DE DSC OBTIDA PARA O OMTE2.....	79
FIGURA 33 -	CURVA DA VARIAÇÃO DA VISCOSIDADE EM FUNÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO OBTIDA PARA O OMTE2.....	80
FIGURA 34 -	(a) CROMATOGRAMA OBTIDO VIA CG REFERENTE AO OMIP.	81
FIGURA 35 –	ASPECTO DO MATERIAL OBTIDO ATRAVÉS DA POLIMERIZAÇÃO DO LACTÍDEO.	82

FIGURA 36 - ESPECTRO FTIR PARA O PLAC.	83
FIGURA 37 - CURVA DE DSC PARA O PLAC.	84
FIGURA 38 - DIFRATOGRAMA REFERENTE AOVPLAC.	84
FIGURA 39 - ESPECTRO DE FTIR REFERENTE À POLI(CAPROLACTONA).	86
FIGURA 40 - CURVA DO DSC PARA POLÍMERO PCL.	86
FIGURA 41 - DIFRATOGRAMA REFERENTE À PCL UTILIZADA EM COPOLIMERIZAÇÃO COM ÓLEOS VEGETAIS.	87
FIGURA 42 - PROPOSTA DA ESTRUTURA DO COPOLÍMERO OBTIDO ATRAVÉS DA REAÇÃO ENTRE ÓLEO DE RÍCINO E POLI(CAPROLACTONA).	88
FIGURA 43 - ASPECTO DO COPOLÍMERO OBTIDO DA REAÇÃO ENTRE POLI(CAPROLACTONA) E ÓLEO DE RÍCINO PURO.	88
FIGURA 44 - ESPECTRO DE ¹ H RMN DO ÓLEO DE RÍCINO <i>IN NATURA</i>	90
FIGURA 45 - ESPECTRO DE ¹ H RMN DO PRODUTO PCLOR 2.	91
FIGURA 46 - CURVA DO DSC PARA COPOLÍMERO PCLOR2.	92
FIGURA 47 - DIFRATOGRAMA REFERENTE AO COPOLÍMERO PCLOR2.	93
FIGURA 48 - ESPECTRO DE FTIR PARA A IVERMECTINA.	94
FIGURA 49 - CURVA DSC PARA A IVERMECTINA.	95
FIGURA 50 - DIFRATOGRAMA REFERENTE À IVERMECTINA.	96
FIGURA 51 - ESPECTRO DE FTIR PARA A QUERCETINA.	96
FIGURA 52- CURVA DSC PARA A QUERCETINA.	97
FIGURA 53 - ESPECTRO DE FTIR PARA A RUTINA.	98
FIGURA 54 - CURVA DSC PARA A RUTINA.	98
FIGURA 55 - ESPECTROS DE FTIR PARA AS MICROPARTÍCULAS DE PCLOR vazias (55a) e PCLOR CONTENDO O ATIVO IVERMECTINA (55b).	100
FIGURA 56 - ESPECTROS DE FTIR PARA AS MICROPARTÍCULAS DE PCL vazias (56a) e PCL CONTENDO OS ATIVOS: IVERMECTINA (56b), QUERCETINA (56c) E RUTINA (56d).	100

FIGURA 57 -	ESPECTROS DE FTIR PARA AS MICROPARTÍCULAS DE PLAC vazias (57a) e PLAC CONTENDO OS ATIVOS: IVERMECTINA (57b), QUERCETINA (57c) E RUTINA (57d).	101
FIGURA 58 -	FOTOMICROGRAFIAS DE MICROPARTÍCULAS (MP) COM AMPLIAÇÃO 10000X	104
FIGURA 59 -	CURVA ANALÍTICA PARA A IVERMECTINA COM AVALIAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE SOBRENADANTES ORIUNDOS DA ENCAPSULAÇÃO.	106
FIGURA 60 -	CURVA ANALÍTICA PARA A QUERCETINA COM AVALIAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE SOBRENADANTES ORIUNDOS DA ENCAPSULAÇÃO.	107
FIGURA 61 -	CURVA ANALÍTICA PARA A RUTINA COM AVALIAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE SOBRENADANTES ORIUNDOS DA ENCAPSULAÇÃO.	108
FIGURA 62 –	ESPECTROS OBTIDOS VIA UV VIS DOS ATIVOS LIBERADOS POR UM PERÍODO DE 120 MINUTOS.	109
FIGURA 63 –	GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO VS TEMPO PARA O ESTUDO DE LIBERAÇÃO DO ATIVO IVERMECTINA ENCAPSULADA EM PCLOR.	111
FIGURA 64 –	GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO VS TEMPO PARA O ESTUDO DE LIBERAÇÃO DOS ATIVOS: IVERMECTINA, QUERCETINA E RUTINA ENCAPSULADOS EM PLAC.	112
FIGURA 65 –	GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO VS TEMPO PARA O ESTUDO DE LIBERAÇÃO DOS ATIVOS: IVERMECTINA, QUERCETINA E RUTINA ENCAPSULADOS EM PCL.	112
FIGURA 66 –	GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO VS TEMPO PARA O ESTUDO DE LIBERAÇÃO DO ATIVO IVERMECTINA ENCAPSULADA NOS POLÍMEROS: PCLOR, PLAC E PCL.	113

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 –	COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS COMERCIAIS QUE PODEM SER USADOS NA CONFECCÃO DE POLIOIS [27, 28]...	26
TABELA 2 -	PLANEJAMENTO FATORIAL TAGUCHI PARA AS REAÇÕES DE TRANSESTERIFICAÇÃO.....	49
TABELA 3 -	CONDIÇÕES DE POLIMERIZAÇÃO.....	52
TABELA 4 –	RESULTADOS DA ANÁLISE VIA CLAE PARA OS PRODUTOS DE TRANSESTERIFICAÇÃO COM ESTIMATIVA, EM %, PARA CADA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL.....	70
TABELA 5 –	RESULTADOS DA ANÁLISE REOLÓGICA OMIP E OMT (SPINDLE SC4- 18).....	72
TABELA 6 -	VALORES DETERMINADOS PARA OS ÍNDICES DE ACIDEZ (IA).	80
TABELA 7 -	RESULTADOS DA CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO EM GEL PARA OS PRODUTOS CLOR (CL COM ÓLEO DE RÍCINO IN NATURA).....	89
TABELA 8 –	ANÁLISE DE DSC PARA COPOLÍMEROS COM ÓLEO PURO...	92
TABELA 9 –	FORMULAÇÕES, EM PORCENTAGEM, DOS ATIVOS: IVERMECTINA, QUERCETINA E RUTINA ENCAPSULADOS NOS POLÍMEROS PCLOR, PCL E PLAC.....	99
TABELA 10 –	TEMPERATURAS DE TRANSIÇÃO VÍTREA, FUSÃO E CRISTALIZAÇÃO OBTIDAS VIA ANÁLISE TÉRMICA PARA O ATIVO IVERECTINA INCAPSULADA EM PLAC, PCL E PCLOR.	102
TABELA 11 –	TEMPERATURAS DE TRANSIÇÃO VÍTREA, FUSÃO E CRISTALIZAÇÃO OBTIDAS VIA ANÁLISE TÉRMICA PARA OS ATIVOS QUERCETINA E RUTINA ENCAPSULADOS EM PLAC E PCL.	103
TABELA 12 –	VALORES DE MASSAS MOLARES E POLIDISPERSIVIDADE OBTIDOS VIA ANÁLISE DE CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO EM GEL (GPC).	103

LISTA DE ABREVIATURAS

ASTM- American Society for Testing and Materials

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

DEG - dietilenoglicol

DSC - differential scanning calorimetry “calorimetria exploratória diferencial”

FTIR ou IVTF - Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

GPC – cromatografia por exclusão de tamanho

IV - ivermectina

MEV – microscopia eletrônica de varredura

OMI - óleo de milho

OMIT - óleo de milho transesterificado

OMITE - polioli de óleo de milho transesterificado-epoxidado

OR - óleo de rícino

PCL - poli(ϵ -caprolactona) diol

PCLOR – copolímero entre caprolactona e óleo de rícino

PLAC – poli(lactídeo)

QUER - quercetina

RMN - ressonância magnética nuclear

RUT - rutina

T_g - temperatura de transição vítrea

T_m - temperatura de fusão cristalina

UV-VIS – ultravioleta visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Polímeros: a crescente aplicação para a liberação de ativos	20
1.2	A utilização de copolímeros biodegradáveis aliados à liberação de princípios ativos	21
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1	Generalidades sobre óleos vegetais.....	23
2.1.1	Poliois ou oligoálcoois	25
2.1.1.1	Poliois de poli(caprolactonas).....	26
2.1.1.2	Poliois vegetais.....	26
2.2	Modificação química de óleos vegetais	27
2.2.1	Transesterificação dos óleos vegetais	30
2.2.2	Epoxidação de óleos vegetais	31
2.3	Generalidades sobre fitoterápicos e extratos vegetais	34
2.4	Aplicação veterinária de agentes antiparasitários.....	35
2.4.1	Ivermectina	37
2.4.2	Quercetina	38
2.4.3	Rutina	39
2.5	Utilização de compostos poliméricos na medicina veterinária	39
2.6	Polímeros aplicados em sistemas de liberação de ativos.....	41
3	OBJETIVOS	43
3.1	Objetivo geral.....	43
3.2	Objetivos específicos.....	43
4	MATERIAIS	44
4.1	Materiais	44
4.2	Equipamentos.....	46
5	MÉTODOS E TÉCNICAS	48
5.1	Síntese dos polióis à base de óleo de milho.....	48
5.1.1	Síntese do éster de óleo de milho	48
5.1.2	Síntese do derivado epoxidado do óleo de milho	49
5.2	Síntese dos polímeros e copolímeros a partir do lactídeo e caprolactona.....	50
5.2.1	Síntese do poli(lactídeo) – PLAC.....	50

5.2.2	Reação de copolimerização entre o polioli do óleo de milho e o polímero PLAC	51
5.2.3	Reação de polimerização entre caprolactona e óleo de rícino in natura .	51
5.3	Encapsulação de ativos em micropartículas de poli(lactídeo), poli(caprolactona) e em copolímero de óleo de rícino	52
5.3.1	Eficiência de encapsulação: método indireto.....	54
5.4	Caracterização dos produtos: óleo, derivados e microcápsulas	55
5.4.1	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	55
5.4.2	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C	55
5.4.3	Determinação do índice de acidez- dosagem de grupos carboxila (norma ASTM D664)	55
5.4.4	Cromatografia em fase gasosa (CG).....	56
5.4.5	Ensaio de reologia do óleo de milho e dos polióis à base de óleo de milho	56
5.4.6	UV VIS	56
5.4.7	Difração de raios X (DRX)	57
5.4.8	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	57
5.4.9	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	57
5.4.10	Cromatografia de exclusão de tamanho (GPC).....	57
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
6.1	Síntese do éster do óleo de milho	59
6.2	Caracterização dos poliois à base de óleo de milho.....	60
6.2.1	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	60
6.2.2	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C ..	63
6.2.3	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	67
6.2.4	Cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE)	68
6.2.5	Ensaio de reologia	71
6.3	Síntese de poliois de óleo de milho transesterificados-epoxidados.....	73
6.3.1	Caracterização dos produtos transesterificados-epoxidados à base de óleo de milho	74
6.3.1.1	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	74
6.3.1.2	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C ..	77
6.3.1.3	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	79

6.3.1.4	Ensaio de reologia	80
6.3.1.5	Dosagem de grupos carboxila – índice de acidez	80
6.3.1.6	Cromatografia em fase gasosa (GC)	81
6.4	Homopolímeros e copolímeros	82
6.4.1	Síntese e caracterização do homopolímero PLAC e seus copolímeros ..	82
6.4.2	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	83
6.4.3	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	83
6.4.4	Difratometria de raios X (DRX)	84
6.5	Copolimerização entre PLAC e polióis	85
6.6	Síntese e caracterização do homopolímero PCL e seus copolímeros.....	85
6.6.1	Caracterização da poli(caprolactona)	85
6.6.1.1	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	85
6.6.1.2	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	86
6.6.1.3	Difratometria de raios X (DRX)	87
6.6.2	Caracterizações dos copolímeros à base de óleo de rícino.....	87
6.6.2.1	Copolímero poli(caprolactona) e óleo de rícino	87
6.6.2.2	Cromatografia de permeação em gel (GPC)	89
6.6.2.3	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹ H	89
6.6.2.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	91
6.6.2.5	Difratometria de raios X (DRX)	93
6.7	Caracterização dos princípios ativos aplicados na encapsulação	93
6.7.1	Ivermectina	94
6.7.1.1	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	94
6.7.1.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	95
6.7.1.3	Difratometria de raios X (DRX)	95
6.7.2	Quercetina	96
6.7.2.1	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	96
6.7.2.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	97
6.7.3	Rutina	97
6.7.3.1	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	97

6.7.3.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	98
6.8	Caracterização das micropartículas contendo os ativos: ivermectina, quercetina e rutina.	99
6.8.1	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	99
6.8.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	102
6.8.3	Cromatografia de permeação em gel (GPC)	103
6.8.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	104
6.8.5	Eficiência de encapsulação por espectroscopia ultravioleta visível (UV VIS).....	106
6.8.6	Estudo da liberação <i>in vitro</i> dos ativos encapsulados	108
7	CONCLUSÕES	114
	REFERÊNCIAS	115

1 INTRODUÇÃO

1.1 Polímeros: a crescente aplicação para a liberação de ativos

O Brasil é um país de grande diversidade vegetal, étnica e cultural detendo valioso conhecimento tradicional relacionado ao uso de plantas medicinais [1]. Esta vasta biodiversidade vegetal é fonte natural de produtos bioativos, que podem ser úteis para a prevenção e o tratamento de patologias ou para o alívio dos sintomas, tanto para uso em humanos como em animais [2, 3].

O interesse pelo desenvolvimento de sistemas poliméricos para a liberação de princípios ativos tem sido crescente devido ao uso de dosagens corretas dos componentes que apresentam ação farmacológica. Nos últimos anos, ancorados na engenharia genética e na biotecnologia, muitos trabalhos vêm sendo realizados visando à produção de novos sistemas como alternativa aos convencionais de terapêutica medicamentosa, visto que apresentam uma melhor resposta em curtos intervalos de tempo com dosagens pré-definidas. [4].

O interesse pelo desenvolvimento de sistemas poliméricos para a liberação de princípios ativos tem sido crescente. Nos últimos anos, ancorados na engenharia genética e na biotecnologia, muitos trabalhos vêm sendo realizados visando à produção de novos sistemas como alternativa aos convencionais de terapêutica medicamentosa [5].

A seleção de determinado vegetal como objeto de pesquisa, baseada na alegação de um dado efeito terapêutico, pode constituir num valioso atalho para a descoberta de princípios ativos tanto na medicina humana como veterinária.

O uso de plantas medicinais na terapêutica com animais pode ser empregado no tratamento e prevenção de diversas patologias causadas por agentes patogênicos tais como fungos, bactérias, vírus, ecto e endoparasitas. Apesar das inúmeras atividades relatadas para espécies vegetais medicinais, como anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral, antifúngica, imunoestimulante, antiparasitária, antioxidante e inseticida, na prática poucos extratos vegetais e fitoterápicos estão disponíveis para aplicação na área veterinária [5].

Para exercer a disponibilização de princípios ativos, os sistemas de liberação têm se apresentado como uma alternativa interessante por envolverem aspectos multidisciplinares e oferecerem vantagens como eficácia terapêutica, proteção da

droga contra a degradação, podendo ainda ser projetados para apresentarem um maior tempo de permanência na circulação sanguínea.

Sistemas poliméricos para a liberação de ativos são largamente utilizados, não só permitindo uma liberação lenta e gradual do ingrediente ativo, como também possibilitando o direcionamento aos alvos específicos do organismo. Para que ocorra uma interação mais eficiente com sistemas orgânicos, estes podem ser sítos de direcionamento, usado para tais materiais encapsulados na forma de micro ou nanopartículas poliméricas, de origem sintética ou natural [6, 7]. Isto se justifica pelo fato de que partículas atingem o alvo mais facilmente, reduz efeitos colaterais e apresenta menor toxicidade.

Ainda que esses últimos sejam bastante atraentes por algumas de suas características, outras dificultam sua aplicação, sendo, portanto, mais utilizados, os polímeros sintéticos. Por apresentar excelente biocompatibilidade, os poliésteres oriundos de óleos vegetais modificados quimicamente tornaram-se importantes, pois derivam de fontes renováveis como os óleos de milho, soja, rícino, dentre outros, os quais são considerados excelentes matérias primas, devido, principalmente, a facilidade na obtenção, a disponibilidade e o baixo custo [8]

Sendo a abordagem principal do presente projeto de pesquisa, o desenvolvimento de sistemas poliméricos a partir da modificação de óleos vegetais com posterior polimerização utilizando polilactídeo ou policaprolactona para a encapsulação de ativos com ação antiparasitária. A seguir são apresentados alguns itens referentes aos precursores utilizados para tal proposta.

1.2 A utilização de copolímeros biodegradáveis aliados à liberação de princípios ativos

Polímeros têm ampla aplicação em tecnologia e ciência de materiais, sendo grande parte de origem petroquímica como: polietileno (PE) e o polipropileno (PP), além do poliestireno (PS), poli(cloreto de vinila) (PVC) e poli(tereftalato de etileno) (PET) que são altamente poluidores além de não serem degradáveis.

Uma alternativa aos polímeros de fontes não renováveis são os polímeros naturais, biopolímeros e polímeros biodegradáveis [9].

Os polímeros biodegradáveis têm sido utilizados como uma alternativa aos plásticos não biodegradáveis, além de contribuir com a diminuição da poluição ambiental, pois apresentam ampla aplicação nas áreas biomédicas, nas quais se ressalta seu uso como matriz para os sistemas de liberação de fármacos, o que justifica o vultoso crescimento do interesse pela síntese e pelo desenvolvimento de polímeros e copolímeros biodegradáveis. Uma classe de polímeros sintéticos que apresenta grande interesse por sua biodegradabilidade e biocompatibilidade é a dos poliésteres. Neste contexto, podem ser citados os polihidroxialcanoatos (PHAs), poli(3- hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV) e o copolímero poli(ácido lático-co-glicólico) (PLGA).

O grande interesse pelo poli(lactídeo) e pela poli(caprolactona) para a aplicação como matriz polimérica em sistemas de liberação de fármacos, deve-se ao fato de que são facilmente degradados formando subprodutos inócuos como o ácido lático ou a caprolactona, que são facilmente absorvidos pelo organismo [10].

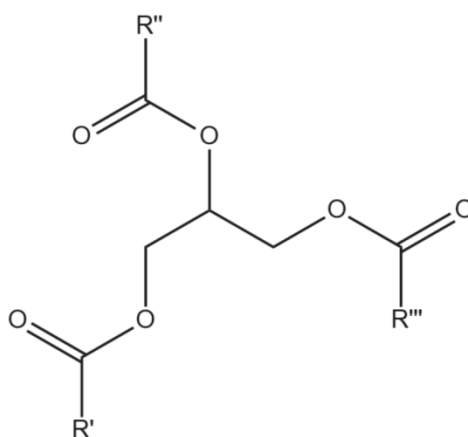
A síntese de copolímeros biodegradáveis produzidos a partir de óleos vegetais com PLAC ou PCL pode apresentar ampla aplicação em terapêutica medicinal, tal como a veterinária, uma vez que são oriundos de materiais com características de biodegradabilidade e biocompatibilidade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades sobre óleos vegetais

Os óleos vegetais constituem-se, basicamente, de triglicerídeos, ácidos carboxílicos de cadeia longa, cujas moléculas possuem três grupos éster sendo insolúveis em água devido sua característica apolar. A Figura 1 representa a estrutura de do triglicerídeo, sendo R', R'' e R''' cadeias carbônicas saturadas ou insaturadas.

FIGURA 1 - REPRESENTAÇÃO QUÍMICA DO TRIGLICERÍDEO [11].



São extraídos de vegetais diversos tais como: milho, soja e mamona sendo que seus principais constituintes variam em porcentagem dependendo da fonte utilizada. Citam-se, dentre outros, como constituintes os ácidos: oleico, linoleico, ricinoleico e linolênico.

Como características de relevância do ponto de vista químico, um óleo vegetal pode ser submetido a um processo de transesterificação para redução do tamanho de cadeias e consequente obtenção de monoacilglicerois além de apresentar insaturações, as quais são passíveis de reação posteriores como as de epoxidação. Tais procedimentos geram produtos como os poliois que apresentam características diferentes de seus precursores e estes podem ser aplicados em reações de polimerização [12, 13].

A transesterificação é um processo de obtenção de um éster a partir da reação entre outro éster e um álcool, sendo que a reação é catalisada na

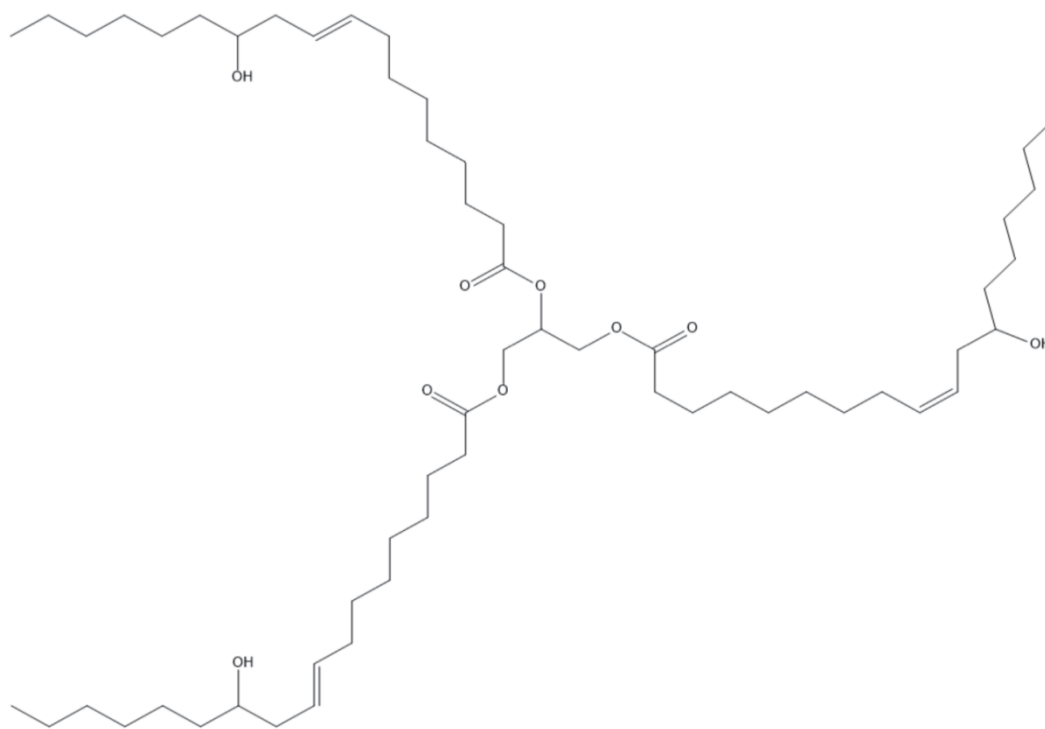
presença de ácidos ou bases fortes. Já a epoxidação consiste na formação de um éter cíclico a partir de uma cadeia carbônica insaturada (C=C).

O óleo de milho é conhecido pela sua excelente estabilidade, devido ao alto nível de antioxidantes naturais como tocoferóis e ácido ferrúlico e por ser uma boa fonte de vitamina E. Os constituintes em menor porcentagem compreendem: fosfolipídios, glicolipídios e a fração insaponificável, constituída principalmente por tocoferóis, esteróis e carotenoides. A quantidade total destes componentes representa menos de 3% do óleo [14].

Sua maior aplicação está voltada à indústria alimentícia como: produção de margarinas, maioneses, e molhos para salada, em pequena quantidade para resinas, plásticos, lubrificantes e óleos similares e uma diminuta parcela pela indústria farmacêutica.

Destaca-se ainda o óleo de rícino (Figura 2), mais conhecido como óleo de mamona, por ser constituído por aproximadamente 87 % de ácido ricinoleico, o qual possui uma hidroxila em sua cadeia carbônica.

FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÓLEO DE RÍCINO [15].



As sementes da mamoeira (*Ricinus communis*) apresentam, em média, de 45 a 55% de óleo, o qual possui como características: líquido de cor levemente

amarelada, alta viscosidade, não volátil, não secante, odor e sabor característicos.

Sendo assim, polímeros obtidos através de óleos vegetais modificados podem apresentar características de biocompatibilidade e ser empregados na área biomédica como na encapsulação de princípios ativos para os mais variados fins.

A química do óleo de rícino está centrada em três pontos: o grupo carboxílico que pode gerar diferentes ésteres, a insaturação na cadeia que pode ser quebrada por diferentes métodos (hidrogenação, hidroformilação, epoxidação e ozonólise) e o grupamento hidroxila, que pode ser removido, acetilado ou alcoxlado [16, 17, 18]. Assim, este óleo se torna atraente e pode ser justificada sua aplicação para a produção de diferenciados biomateriais.

2.1.1 Poliois ou oligoálcoois

O termo “poliol” é uma nomenclatura particular para álcoois polifuncionais, empregados na química de polímeros. São compostos didroxilados ou polihidroxilados podendo ser empregados na síntese de outras classes de polímeros ou copolímeros. As características mais relevantes destes compostos são a funcionalidade e a massa molar: a funcionalidade deve variar de 1,8 a 12 e a massa molar pode variar entre 200 e 100.000 g mol^{-1} , dependendo da aplicação. Os poliois mais comumente empregados são classificados como: poliois poliéteres, poliois poliésteres e poliois hidrocarbônicos, que são de natureza petroquímica e poliois derivados de óleos vegetais [19, 20].

Poliois derivados de óleos vegetais: uma nova categoria de polióis surgiu nas últimas décadas, com base em óleos vegetais pelo fato de serem provenientes de fontes renováveis. Óleos tais como, milho, canola, soja e rícino são constituídos por cerca de 95% de triacilgliceróis (TAG) de cadeias longas saturadas ou insaturadas. Desta forma, são excelentes precursores de poliois, os quais podem, ser amplamente empregados para a obtenção de biomateriais, potencialmente biocompatíveis e com característica de biodegradável.

2.1.1.1 Poliois de poli(caprolactonas)

Poliois policaprolactonas são obtidos através da abertura do anel da ϵ -caprolactona utilizando álcoois como precursores (compostos hidroxilados). A funcionalidade das policaprolactonas é determinada pela funcionalidade do álcool que dá origem ao polímero [21].

Policaprolactonas dióis são obtidas pela abertura do anel da ϵ -caprolactona com dióis como: dietileno glicol, 1,4 butanodiol, neopentil glicol ou 1,6-hexanodiol [22]. Policaprolactonas trióis, além dos dióis, utilizam trióis como: trimetilol propano ou glicerina, e as policaprolactonas tetróis utilizam dióis e tretróis como o pentaeritritol.

2.1.1.2 Poliois vegetais

Poliois derivados de óleos vegetais representam uma nova categoria que surgiu nas últimas décadas principalmente por serem provenientes de fontes renováveis. Os óleos vegetais mais estudados e aplicados para esse fim são oriundos de plantas que produzem óleos comestíveis, tais como, milho, canola, soja ou não comestíveis como o óleo de rícino (Tabela 1).

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS COMERCIAIS QUE PODEM SER USADOS NA CONFECÇÃO DE POLIOIS [27, 28]

Óleo vegetal	Canola	Milho	Soja	Rícino
Composição	%	%	%	%
Ácido Palmítico (C 16:0)	6,5	12,5	11,5	1,5
Ácido Palmitolênico (C16:1)	0,6	-----	-----	-----
Ácido Esteárico (C 18:0)	3,0	2,5	4,0	0,5
Ácido Oleico (C 18:1)	50	29,0	24,5	0,5
Ácido Linoleico (C 18:2)	25,7	55,0	53,0	4,0
Ácido Linolênico (C 18:3)	13	0,5	7,0	0,5
Ácido Aracídico (C 20:0)	1,2	0,5	-----	0,5
Ácido Ricinoleico (C 18:1)	-----	-----	-----	87,5

Os óleos vegetais são constituídos por cerca de 95% de triacilgliceróis (TAG) de cadeias longas variando de 14 a 22 átomos de carbono, saturados ou insaturados, com insaturações em diferentes posições ao longo da cadeia carbônica podendo ser conjugadas [23, 24]. São muito empregados para a obtenção de biomateriais, potencialmente biocompatíveis e biodegradáveis [25, 26].

Uma tendência global é a procura por polióis obtidos de fontes renováveis, como os à base de óleos naturais em função da substituição parcial de matérias primas de origem petroquímica.

2.2 Modificação química de óleos vegetais

A literatura apresenta muitos trabalhos de modificações de óleos vegetais ou de gorduras animais para produção de biodiesel, que tem por fundamento a obtenção de ésteres de ácidos graxos através da alcoólise empregando álcoois monohidroxilados como metanol ou etanol, composta por três reações consecutivas e reversíveis, nas quais são formados, como intermediários, diacilgliceróis e monoacilgliceróis conforme apresentado (Figura 3).

As reações de transesterificação podem ser catalisadas por ácidos, bases ou enzimas em meio homogêneo ou heterogêneo. Na catálise enzimática são empregadas lipases, cuja função é catalisar a hidrólise de óleos vegetais e gorduras com a liberação de ácidos graxos livres, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol. A sua grande vantagem é dada pela especificidade, regioseletividade e enantiosseletividade, contudo a aplicabilidade deste método é limitada devido ao alto custo das enzimas e longos tempos de reação [30].

Catálise homogênea alcalina possui atividade maior que a ácida, alta conversão em curto espaço de tempo e são menos corrosivas que os ácidos minerais. A Figura 4 mostra o mecanismo deste tipo de catálise [31, 32].

A catálise homogênea ácida tem grande vantagem sobre a alcalina por ser a melhor alternativa quando o óleo utilizado como matéria-prima possui alta concentração de ácidos graxos livres, além de catalisar simultaneamente esterificação e transesterificação.

FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO GENÉRICA DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS COM ÁLCOOL, FORNECENDO ÉSTER E GLICEROL [29].

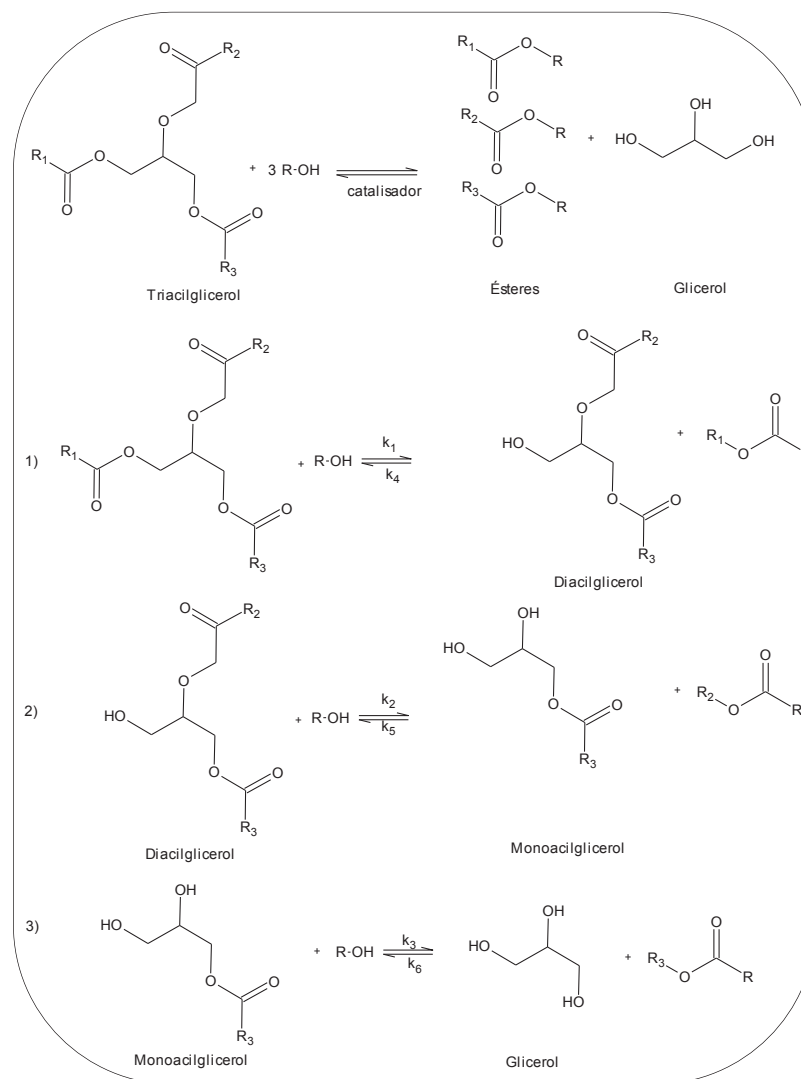
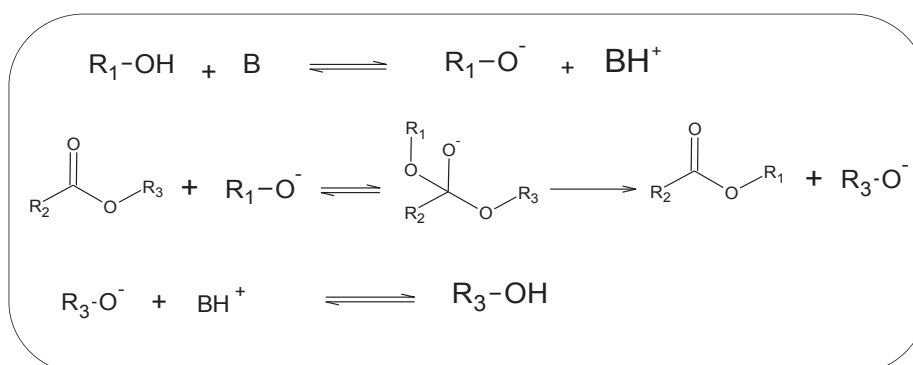
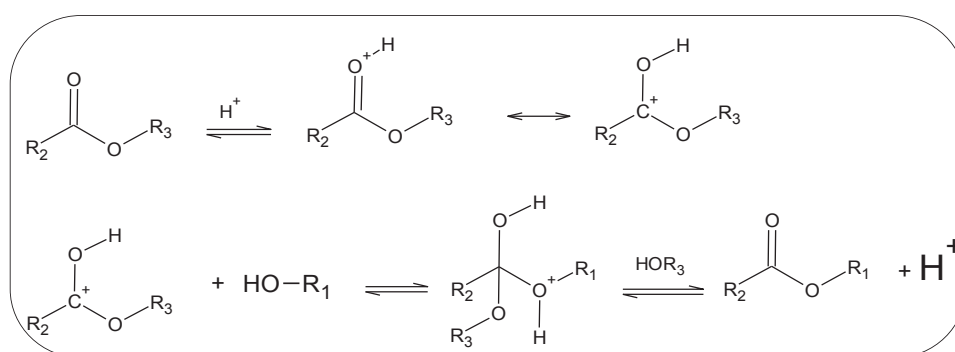


FIGURA 4 - MECANISMO PROPOSTO PARA TRANSESTERIFICAÇÃO COM CATÁLISE ALCALINA, ONDE R₂ E R₃ SÃO AS CADEIAS DOS ÁCIDOS GRAXOS E R₁ A CADEIA ALQUÍDICA DO ÁLCOOL [29].



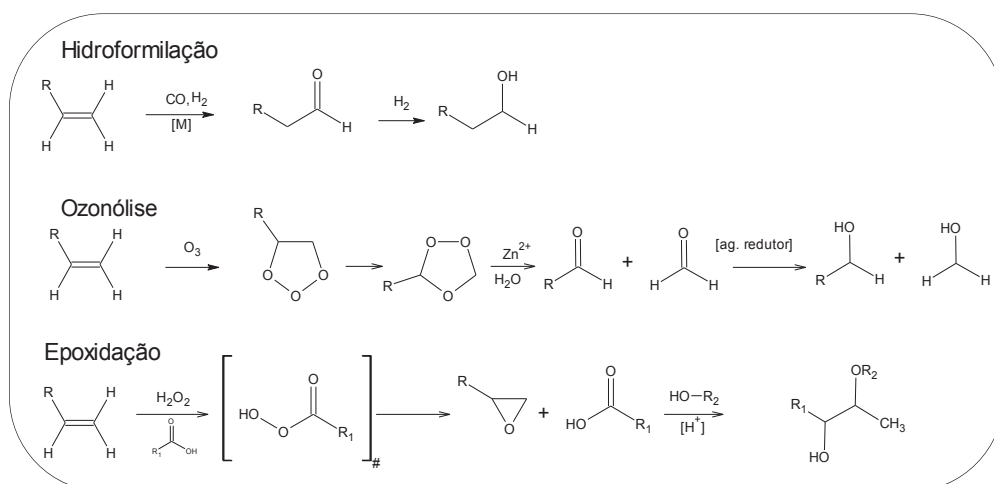
A Figura 5 mostra o mecanismo proposto para as reações de transesterificação com catálise ácida. Contudo, não é muito empregada por necessitar de longos períodos reacionais, altas temperaturas e pressão que resultam em problemas de corrosão. Outro problema que se nota em reações de transesterificação com catálise homogênea ácida ou básica é a remoção do catalisador do produto que é complexa e exige várias etapas de purificação [32].

FIGURA 5 - MECANISMO PROPOSTO PARA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS EM MEIO ÁCIDO. R₂ E R₃ SÃO AS CADEIAS DOS ÁCIDOS GRAXOS E R₁ A CADEIA ALQUÍDICA DO ÁLCOOL [29].



Polióis a partir de óleos de milho, de rícino, dentre outros, são considerados excelentes matérias primas, no que diz respeito à facilidade na obtenção, disponibilidade e baixo custo. Porém, para que sejam empregados com polióis os óleos devem ser modificados quimicamente, com rotas sintéticas como hidroformilação, ozonólise e epoxidação, comumente empregadas para quebrar as insaturações dos triacilgliceróis gerando hidroxilas ou outros derivados como mostra o esquema da Figura 6 [33, 34].

FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO GENÉRICA DAS REAÇÕES DE HIDROFORMILAÇÃO, OZONÓLISE E EPOXIDAÇÃO [33].

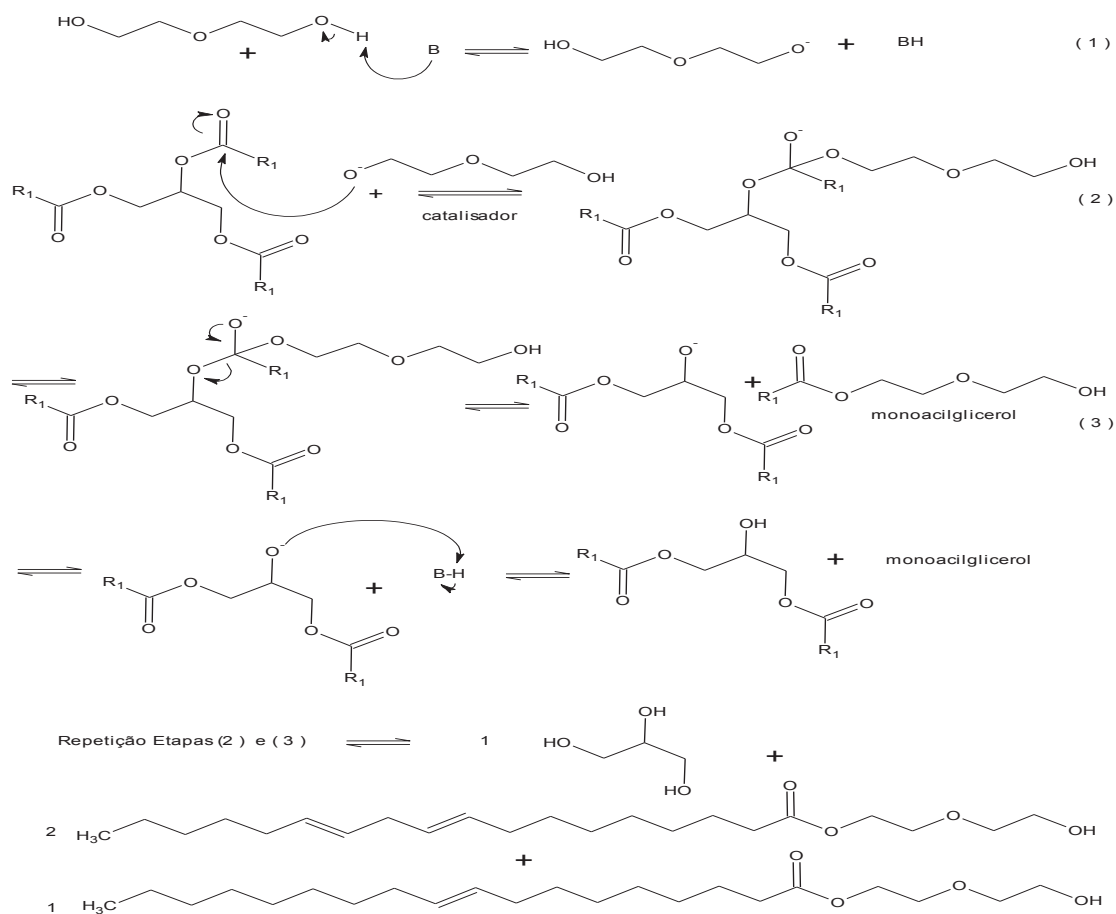


Pesquisadores [35] produziram polióis a partir do óleo não refinado de *Jatropha* empregando reações de epoxidação com formação de perácido a partir de ácido fórmico e peróxido de hidrogênio na razão molar de (0,4:1:1,7- ácido: insaturações: H₂O₂) com a abertura do anel empregando metanol em meio ácido. O poliol obtido apresentou baixa viscosidade devido ao baixo índice de hidroxila obtido de 171 a 179 mg KOH.g⁻¹ em reações de 5h. Odetoeye *et al.*, [36] sintetizaram materiais à base de óleo de *Jatropha curcas* Linnaeus através de reações de epoxidação com formação de perácido a partir de ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio, seguida de hidroxilação e desidratação para aumentar o grau de insaturação do óleo para a produção de resinas alquídicas. Jia *et al.*, [37] produziram polióis a partir de óleo de semente de algodão via epoxidação com abertura utilizando ácido fórmico e H₂O₂ em reações de 1h a 50°C e 5h a 60°C. A abertura do anel oxirano foi conduzida com sorbitol em meio ácido. O poliol com maior índice de hidroxila foi de 90 mg KOH g⁻¹ em 7h de reação. Campanella & Baltanás (2006) [38] sintetizaram derivados do óleo de soja com os anéis epóxido fechados empregando ácido acético e peróxido de hidrogênio com variadas concentrações, e derivados do óleo de soja com anéis abertos foram obtidos utilizando H₂SO₄ nas mesmas condições empregadas no primeiro caso. Observou-se que, quando não se emprega catalisador a abertura do anel pelo peróxido é lenta, assim como o ataque a uma velocidade moderada do ácido acético. A degradação do anel oxirano ocorre rapidamente com o emprego de H₂SO₄. Portanto, o uso de catalisador muda a cinética de reação, tornando o processo mais eficiente.

2.2.1 Transesterificação dos óleos vegetais

A reação de transesterificação de óleos vegetais consiste basicamente em formar cadeias carbônicas de ésteres livres a partir do triacilglicerol presente no *óleo in natura* (Figura 7). Estas reações podem ser catalisadas de duas formas: catálise homogênea, a qual possibilita rápida conversão e baixo percentual de reações secundárias (hidrólise ácida ou básica e saponificação), catálise heterogênea que controla simultaneamente reações de transesterificação, esterificação e melhora a pureza dos produtos.

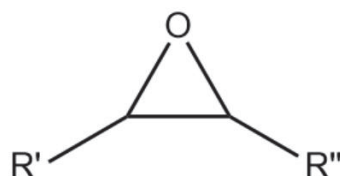
FIGURA 7 – PROPOSTA DE MECANISMO DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO ENTRE ÓLEO E DEG [37].



2.2.2 Epoxidação de óleos vegetais

Óleos vegetais epoxidados são produzidos a partir de perácidos orgânicos formando grupo epóxi, ou anel oxirânico, na estrutura do ácido graxo. São obtidos a partir do óleo vegetal que foi inicialmente transesterificado, sendo que esta etapa gera cadeias lineares do óleo. Estas cadeias são submetidas à epoxidação: reação na qual é empregado ácido fórmico, mais especificamente, o perácido fórmico (obtido da reação entre ácido fórmico e peróxido de hidrogênio). Uma vez que o óleo transesterificado reage com o perácido fórmico, obtém-se o óleo epoxidado, o qual contém anel de epóxi constituído por um átomo de oxigênio e dois carbonos ligados entre si, formando um éter cíclico (Figura 8). Havendo uma maior concentração de perácido no meio reacional, este anel é aberto e se obtém um óleo vegetal modificado oriundo do óleo transesterificado-epoxidado.

FIGURA 8 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ANEL DE EPÓXI [39].



Estudos realizados [39] mostraram que epóxidos ou oxiranos são versáteis intermediários em síntese orgânica, preparados através de uma variedade de materiais de partida e que podem gerar, simultaneamente, até dois carbonos estereogênicos. Em razão da polaridade e da tensão do anel, os epóxidos são suscetíveis às reações com nucleófilos, ácidos, bases, agentes redutores e oxidantes.

Agentes epoxidantes são substâncias químicas responsáveis pela adição de um átomo de oxigênio em uma ligação dupla carbono/carbono formando o anel epóxido. O peróxido de hidrogênio tem sido o agente epoxidante mais atrativo para este tipo de reação, pois é ambientalmente mais aceito, apresenta baixo custo e o subproduto da reação é a água. No entanto, por ser pouco eletrofílico há a necessidade de ter um ativador para reagir com a olefina [40].

Reações de epoxidação são realizadas com ácidos peroxicarboxílicos, peracético, perfórmico ou perbenzoico, porém apresentando como pontos fracos o descarte de subprodutos tóxicos e o manuseio não muito facilitado.

A reação de epoxidação é amplamente utilizada, visto que o anel de oxirano é altamente reativo e precursor de álcoois, glicóis, compostos olefínicos, polímeros poliésteres, poliuretanos e resinas epóxi.

A formação de perácidos [41] se dá através de duas possíveis rotas (Figura 9):

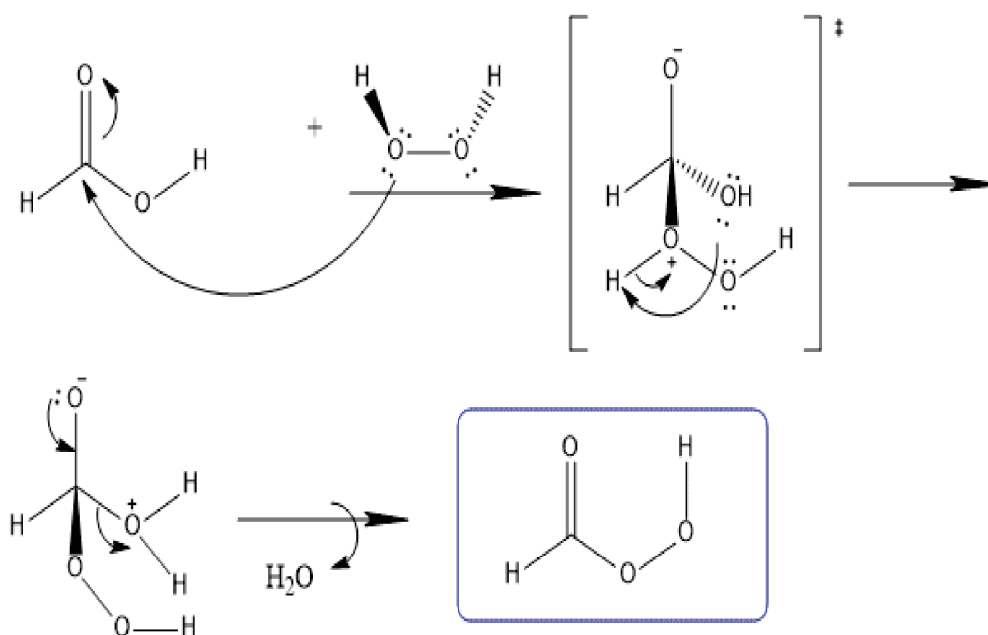
Rota A não catalítica, em que há adição do peróxido de hidrogênio ao carbono da carbonila em um ataque nucleofílico para a formação de um estado intermediário com a perda, posteriormente, de molécula de água (Figura 9).

Rota B catalisada por ácido fórmico na qual há a protonação do carbono da carbonila, ativando o carbono deste grupamento para sofrer ataque nucleofílico do peróxido de hidrogênio com posterior perda de molécula de água, desprotonação do oxigênio carbonílico e formação de perácido fórmico [42, 43].

Com a formação da espécie ativa, que irá atacar as insaturações dos ácidos graxos, ocorrerá a formação do epóxido (Figura 10).

FIGURA 9 - REPRESENTAÇÃO DA FORMAÇÃO DO PERÁCIDO [42].

ROTA A: NÃO CATALÍTICA



ROTA B: CATALÍTICA

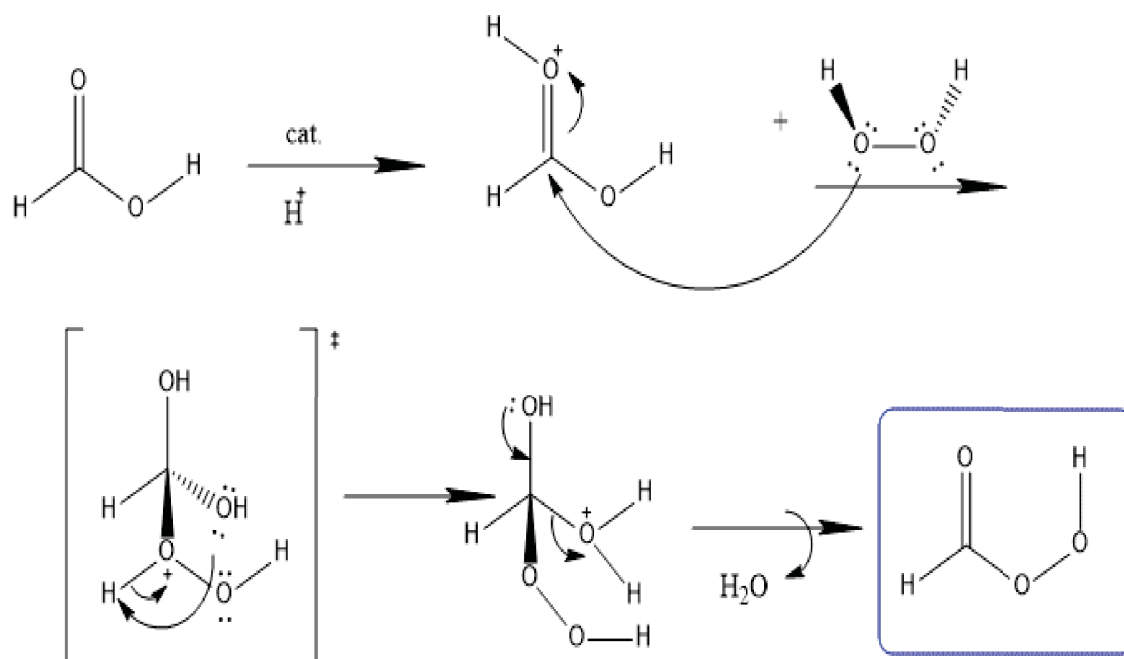
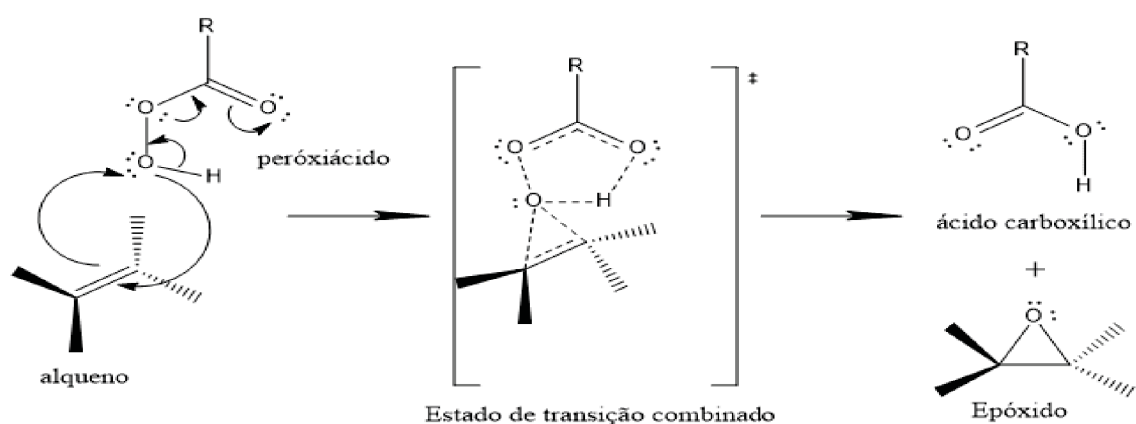


FIGURA 10 - REPRESENTAÇÃO DE FORMAÇÃO DO EPÓXIDO [45].



Estudos descrevem que a epoxidação via ácido fórmico com catálise homogênea ácida é simples e pouco dispendiosa para formar epóxido em óleos vegetais [44, 45].

Analogamente, em trabalhos publicados, foi descrito que reações de epoxidação apontaram como melhor condição experimental na relação 1:1:4 (mols de insaturação: ácido fórmico 85%: peróxido de hidrogênio 30%) e desta forma o grau de epoxidação obtido foi superior a 90% com baixo custo e ausência de utilização de solventes clorados [46].

2.3 Generalidades sobre fitoterápicos e extratos vegetais

Extratos vegetais são formulações concentradas obtidas de vegetais normalmente utilizando um solvente orgânico. Podem ser utilizados: folha, caule ou raiz de uma planta na obtenção de um extrato, sendo que o número de componentes químicos presentes nesta formulação não necessariamente é conhecida.

Um dos grandes desafios está no isolamento e caracterização das espécies químicas presentes em um extrato bem como a verificação da eficácia e aplicação de tais espécies [47].

Formulações fitoterápicas em suma, são aquelas nas quais são empregados extratos vegetais, na forma simples ou combinada. Entretanto, vale salientar que os princípios ativos oriundos de extratos ou aqueles utilizados como formulação fitoterápica deve necessariamente apresentar eficácia para o fim estabelecido.

2.4 Aplicação veterinária de agentes antiparasitários

Provavelmente, logo após o início da domesticação dos animais, a humanidade reconheceu a necessidade de combater os indesejáveis parasitas, devido ao seu caráter devastador, reconhecidos como potente causador de perdas na criação. A saúde dos animais depende de um controle parasitário efetivo para que se possam obter animais saudáveis e prontos para a venda. A erradicação dos parasitas é, na maioria dos casos, impraticável e geralmente não é necessária para que se possam controlar parasitas economicamente importantes nos animais de criação. Muito embora este princípio tenha sido levado em consideração, a chegada dos revolucionários compostos de amplo espectro ocasionou certa acomodação e uma falsa sensação de segurança. A falha mais grave foi, no entanto, negligenciar os fatores epidemiológicos. Este fato torna-se mais claro nos dias de hoje, com a perda da eficácia de todos os compostos.

Mesmo sendo o parasitismo a causa primária da redução do potencial produtivo animal, torna-se difícil estabelecer o real valor do prejuízo gerado. As infecções parasitárias podem afetar a ingestão alimentar, a digestibilidade e mais uma variedade de processos fisiológicos que se manifestam de várias formas. A estimativa feita na Austrália é que o prejuízo causado por helmintos possa chegar a AUS\$222 milhões/ano para a indústria ovina.

A resistência contra as drogas parasiticidas é um dos problemas mais sérios da cadeia produtiva animal e com o surgimento dos compostos químicos capazes de eliminar grandes quantidades de parasitas dos hospedeiros, todo este processo foi acelerado. O desenvolvimento de parasitas resistentes a qualquer composto é inevitável e ao iniciar a utilização de um composto, se estará iniciando também um processo de seleção dentro de uma determinada população. O intervalo inicial (meses/anos) para que este fenômeno ocorra depende da espécie do parasita e de seu potencial biótico, da forma de manejo escolhida para cada caso, de inúmeros fatores ambientais e da pressão de seleção exercida pela droga utilizada.

O diagnóstico será positivo para “resistência” quando uma determinada droga que apresentava redução acima de 99% da carga parasitária obter redução menor do que 95% contra determinado organismo após certo período de tempo. E como não existem drogas capazes de eliminar 100% dos parasitas em 100% das ocasiões, mesmo um pequeno número de indivíduos sobreviventes será capaz de transmitir a resistência. Sabendo que a resistência parasitária é transmitida geneticamente, todos estes novos parasitas estarão aptos a tolerar o composto se utilizado novamente. Hoje, este fenômeno ocorre frente a todos os compostos químicos com graves consequências

econômicas no mundo todo. O mecanismo de resistência está ligado ao mecanismo de ação das drogas e conseqüentemente ao processo de seleção (VAN WYK et al., 1997).

Torna-se necessário conhecer profundamente o mecanismo de resistência às drogas e como era esperado o mecanismo de resistência pode estar ligado ao mecanismo de ação dessas.

São escassos os trabalhos que avaliam ou demonstram atividade antiparasitária de plantas *in vitro* frente a espécies da família *Ancylostomidae* (vermes endoparasitas), sendo grande parte das pesquisas mais comumente direcionadas para avaliação de atividade de fungos nematófagos, dentre os quais *Pochonia chlamydosporia* e fungos do gênero *Pleurotus*, que, em grande parte, produzem proteases capazes de destruir ovos de nematoides [48].

Um fator limitante na prevenção da transmissão desses parasitos através do uso de extratos vegetais, no que concerne à propriedade ovicida, está relacionado com a composição química do envoltório dos ovos, que é extremamente resistente, sendo necessário para este fim o uso de substâncias com propriedade lipolítica ou proteolítica. Desse modo, a busca por substâncias com propriedades larvicidas consiste em uma alternativa viável, haja vista a maior susceptibilidade das larvas à ação destrutiva de componentes químicos, já que nesta forma evolutiva, não mais se encontram protegidas pelo envoltório do ovo.

Alguns fitoterápicos têm sido amplamente testados no que diz respeito à atividade larvicida frente aos nematoides de pequenos ruminantes, dentre os quais *Haemonchus contortus*, um parasito geohelminto, que, assim como os ancilostomídeos, têm como condição essencial para transmissão, a eclosão de ovos e evolução das larvas no meio ambiente, diferindo apenas no seu mecanismo de transmissão.

Neste caso as larvas precisam ser ingeridas pelo hospedeiro, enquanto que na ancilostomose a transmissão ocorre principalmente por penetração transcutânea [49].

Compostos ativos de vegetais têm sido amplamente estudados para o controle de parasitos [50], destacando-se os taninos, que são os metabólitos secundários mais encontrados em plantas sendo capazes de reduzir a eclosão, desenvolvimento, motilidade e desembainhamento larvar de nematoides.

A exposição de larvas de parasitos intestinais presentes em ruminantes a pequenas concentrações de flavonoides presentes em extratos vegetais promove diminuição da atividade parasitária [51, 52].

Destacam-se como flavonoides de eficácia antiparasitária: quercetina e rutina frente à ivermectina amplamente difundida e utilizada no campo da veterinária.

2.4.1 Ivermectina

As lactonas macrocíclicas são responsáveis por causar uma hiperpolarização da musculatura, em nematodas, abrindo irreversivelmente os canais de cloro e glutamato. O glutamato é responsável pela abertura destes canais e pode ser a principal diferença entre o modo de ação entre a ivermectina e a moxidectina. Sugere-se que existam dois membros da família dos canais de cloro responsáveis pela resistência às drogas, um na faringe e outro no sistema nervoso do parasito. Outro fator é a presença da glicoproteína-P que funciona retirando a droga do interior da célula, conferindo a pouca eficácia para ambas as drogas citadas. Os canais de cloro devem estar ligados ao mecanismo de ação das macrolactonas enquanto a glicoproteína-P regula a concentração destes anti-helmínticos no local de ligação na membrana celular. Xu e colaboradores (1998) observaram que os níveis de RNA mitocondrial de P-gp em *H. contortus* são mais altos nas cepas resistentes a ivermectina do que nas cepas susceptíveis. Estes resultados aumentam a possibilidade de que a presença da P-gp esteja ligada ao mecanismo de resistência apresentado pelo *H. contortus* a ivermectina, como consequência da seleção feita após o uso contínuo desta droga.

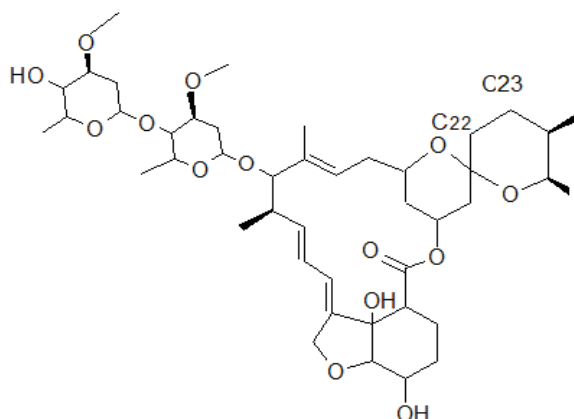
Avarmectinas são produtos derivados da fermentação de actinomicetos do gênero *Streptomyces* com aplicação na medicina veterinária e humana, como antiparasitários e ectoparasiticida, e na agricultura, como inseticidas. Apresentam-se estruturadas na como lactonas macrocíclicas nas formas: ivermectina, abamectina, doramectina e selamectina (Figura 11).

A ivermectina é considerada uma abamectina semissintética introduzida na Medicina Veterinária nos anos 80. Apresenta um amplo espectro de aplicação, com grande margem de segurança e baixa eficácia quando utilizada em bovinos, ovinos, caprinos e equinos.

São compostos lipofílicos praticamente insolúveis em água e em hidrocarbonetos saturados a exemplo do ciclohexano, porém solúveis na maioria dos solventes orgânicos (clorofórmio, diclorometano, propanona, tolueno, propilenoglicol, polietilenoglicol, etc.).

Apresenta-se na forma de um pó branco cuja massa molar é de aproximadamente 900 g mol^{-1} [53].

FIGURA 11 - ESTRUTURA QUÍMICA DA IVERMECTINA [53].



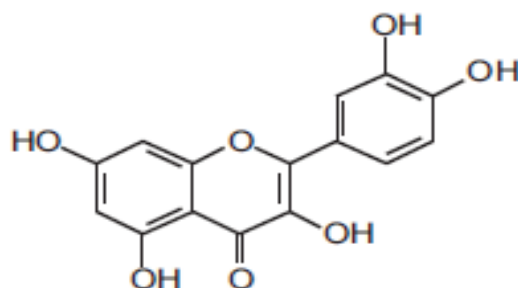
2.4.2 Quercetina

É um polifenol encontrado na forma glicosilada e antioxidante natural por sequestrar radicais livres e quelar íons metálicos. É classificada como um flavonol, uma das cinco subclasses de compostos flavonoides [54]. Tem sido amplamente utilizada como um suplemento nutricional e como um remédio fitoquímico para uma variedade de doenças como diabetes, obesidade e disfunção circulatória, incluindo inflamação, bem como transtornos do humor.

Sua estrutura química (Figura 12) permite estabilidade devido à ressonância, garantindo atividade antioxidante e resistindo à formação de radicais fenoxil.

Novas linhas de pesquisa têm demonstrado que a quercetina, assim como outros flavonoides, apresenta um potencial antiparasitário, principalmente quando aplicada às larvas de animais ruminantes, que apresentam resistência aos antiparasitários convencionais como a ivermectina.

FIGURA 12 - ESTRUTURA QUÍMICA DA QUERCETINA [54].

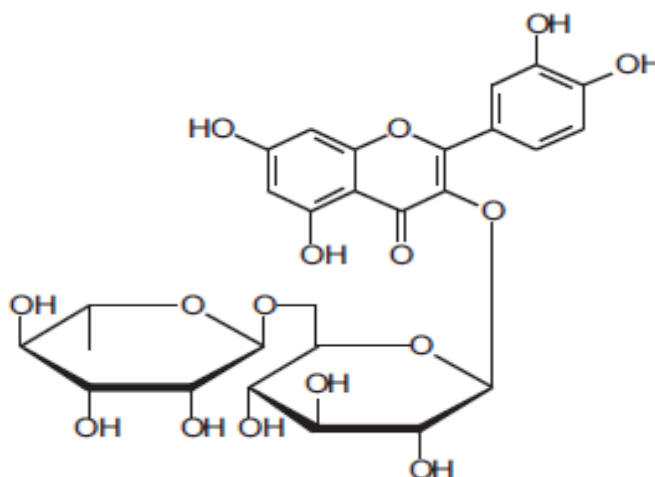


2.4.3 Rutina

A rutina (Figura 13) é um flavonoide pertencente à subclasse dos flavonóis que tem sido intensamente pesquisada e os resultados estão interessando constantemente as indústrias farmacêuticas.

Destaca-se em função das suas diversas atividades farmacológicas como a melhora nos sintomas de insuficiência dos vasos linfáticos e venosos associados com algumas doenças hemorrágicas ou de hipertensão, por promover a normalização da resistência e permeabilidade da parede destes vasos [55]. É um composto amplamente encontrado no reino vegetal que, por apresentar entre outras atividades biológicas, a antiparasitária, têm sido objeto de estudo.

FIGURA 13 - ESTRUTURA QUÍMICA DA RUTINA [55].



2.5 Utilização de compostos poliméricos na medicina veterinária

Polímeros degradáveis têm utilização bastante similar quando se compara a indústria de medicamentos para humanos e animais, dentre elas: o envolvimento de aspectos regulatórios, a competitividade pelo mercado e a necessidade de determinação da eficácia e segurança dos produtos propostos.

Os sistemas de liberação de fármacos podem ser encontrados, em geral, nas formas de comprimidos, géis, adesivos, suspensões, emulsões e implantes, preparados como sistemas matriciais, reservatórios e liberação controlada. Podem ainda ser administrados pelas vias convencionais sendo que os principais fármacos de uso veterinário incorporados nas formulações são os antiparasitários

e hormônios.

Segundo estudos na área de medicina veterinária [56], polímeros derivados do óleo de mamona podem ser empregados em próteses animais, pois são compatíveis com tecidos vivos além de poderem substituir as pesadas e dispendiosas próteses convencionais feitas de platina devido sua baixa densidade. Aplicam-se ainda como substitutos de implantes de silicone devido à sua viscosidade e biocompatibilidade.

Há relatos da utilização de polímeros oriundos de mamona em defeitos ósseos com resultados clínicos e biológicos satisfatórios [57, 58].

Nos últimos anos, os sistemas biodegradáveis de administração de fármacos veterinários, tais como microesferas e implantes têm sido testados na promoção do crescimento de espécies animais [57, 59] e no controle de ectoparasitoses [57, 60]. Como vantagens da utilização de tais sistemas citam-se a não necessidade de remoção das microesferas após o tratamento e a degradação em compostos que podem ser facilmente assimilados pelo organismo [57, 61].

No entanto, atualmente poucos sistemas biodegradáveis de administração de fármacos estão disponíveis comercialmente para uso veterinário, principalmente devido ao preço elevado, possibilidade de ruptura abrupta do polímero com uma liberação excessiva do princípio ativo e estabilidade pouco conhecida [57, 61].

Destacam-se, neste sentido, a produção de micro e nanoparticulados visto sua grande efetividade terapêutica, seja no campo de saúde humana ou animal. A principal vantagem é o fato de carregarem os fármacos para sítios específicos no organismo, reduzindo a toxicidade para células saudáveis e diminuindo a possibilidade do aparecimento de reações adversas.

Como desvantagem, há alguns fármacos que possuem baixa capacidade de encapsulação, podendo causar a liberação do fármaco durante a estocagem [62].

As micro e nanopartículas constituídas por materiais biodegradáveis, como polímeros (sintéticos ou naturais), lipídeos ou fosfolipídeos, têm sido aplicadas com bastante eficácia e sucesso na veterinária quando associados aos extratos vegetais, uma vez que trata-se de uma inovação, pois as formas de administração convencionais bem como o quantidade e a eficácia de medicamentos veterinários,

têm se tornado incipientes e obsoletos [62, 63].

Os sistemas microparticulados têm sido investigados para proporcionar a liberação sustentada de fármacos durante períodos de semanas a meses [64]. Vários métodos de preparação são utilizados, incluindo diferentes solventes orgânicos para a formulação de microesferas de progesterona e estradiol aplicados ao controle de cio e ovulação [65]. Estes sistemas melhoram a proteção do fármaco, podem promover muco adesão e o fracionamento da dose, contribuindo para melhorar a biodisponibilidade dos princípios ativos [66, 67, 68].

Sistemas de liberação controlada permitem que antígenos encapsulados, sejam destinados especificamente ao local de ação, protegendo contra uma possível degradação, garantindo maior comodidade ao animal, devido ao número menor de aplicações e uma dose antigênica mais efetiva [69].

Outros estudos relatam a eficácia, em longo prazo, de micropartículas de ivermectina para bovinos e caprinos no controle de carrapatos utilizando polímeros biodegradáveis [70, 71]. Uma formulação de microesferas injetáveis bioabsorvíveis contendo ivermectina em copolímero de poli(ácido lático-co-glicólico) foi desenvolvida para proporcionar uma ação duradoura do fármaco para o controle de pragas de gado bovino. Após a aplicação das microesferas foi verificado, através de análise sanguínea, a presença de ivermectina aproximadamente uma semana após a injeção e um segundo pico de concentração maior do que o primeiro entre a sexta e a sétima semanas após a injeção. Através deste estudo foi possível confirmar que a liberação foi controlada e eficaz.

2.6 Polímeros aplicados em sistemas de liberação de ativos

Dentre os poliésteres biodegradáveis utilizados em sistemas de liberação de ativos, destacam-se a poli(caprolactona) e o poli(lactídeo).

A poli(caprolactona) é visada devido às suas características de biodegradabilidade, biocompatibilidade, atoxicidade e inocuidade de produtos de degradação [56]. Por esta razão, os copolímeros oriundos desse material vêm sendo estudados com a finalidade de uso em diversas aplicações, como nas áreas médica e veterinária produzindo materiais biocompatíveis [72].

O processo de degradação da poli(caprolactona) se dá por meio da hidrólise das ligações éster, originando produtos na forma de oligômeros, ou monômeros, solúveis e atóxicos [72, 73].

O poli(lactídeo) é um polímero com grandes aplicações nas áreas médica, odontológica e farmacêutica [74]. Um fator relevante é a massa molar desse polímero, que deve ser suficientemente elevada (acima de $100.000 \text{ g.mol}^{-1}$) e apresentar dureza alta o suficiente para ser utilizado em próteses. Por outro lado, uma massa molar não tão elevada (em torno de 5.000 g.mol^{-1}), é indicada para o uso como sistema de liberação de fármacos. Nesta aplicação os polímeros são facilmente degradados formando subprodutos inócuos (como o ácido lático), os quais são gradualmente absorvidos pelo organismo [75].

Sua excelente bioabsortividade e biocompatibilidade proporcionam inúmeras aplicações na área biomédica [76, 77]. Os sistemas de liberação de fármacos despertam grande interesse científico pela característica de seletividade para levar o fármaco até o local específico de ação e por um tempo prolongado, sendo possível a liberação mais lenta do princípio ativo [78].

A matriz polimérica a partir do poli(lactídeo) é degradada por hidrólise no interior do organismo humano, resultando em cadeias progressivamente menores e mais biocompatíveis [79]. Os polilactídeos, poliglicolídeos e seus copolímeros, formam subprodutos como ácido lático e glicólico, que entram no ciclo de Krebs [80], sendo posteriormente transformados em dióxido de carbono e água os quais são excretados [81].

Os fatos apresentados viabilizam o uso do PLAC da PCL e derivados para a encapsulação de princípios ativos, foco do presente trabalho.

Assim como os homopolímeros biodegradáveis, também podem ser aplicados na encapsulação de princípios ativos, os copolímeros, sintetizados a partir de dois ou mais monômeros distintos, que também apresentem características biodegradáveis, porém, cuja fonte seja renovável. Tais copolímeros podem vir a gerar materiais com características diferentes daquelas dos polímeros convencionais.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Sintetizar e caracterizar copolímeros biodegradáveis provenientes da reação entre poli(lactídeo) ou poli(caprolactona) e óleos vegetais *in natura* ou modificados para a encapsulação de princípios ativos com ação antiparasitária.

3.2 Objetivos específicos

- Promover a modificação química dos óleos vegetais através dos métodos de transesterificação e epoxidação.
- Caracterizar propriedades dos óleos de rícino e de milho *in natura* bem como dos óleos modificados quimicamente.
- Sintetizar copolímeros à base dos óleos vegetais e óleos vegetais modificados utilizando os monômeros lactídeo e caprolactona.
- Caracterizar os produtos obtidos por técnicas analíticas qualitativa e quantitativas.
- Caracterizar as propriedades térmicas dos polímeros bem como proceder sua análise morfológica.
- Desenvolver micropartículas poliméricas contendo os ativos: ivermectina, quercetina e rutina, na forma de um composto padrão.
- Avaliar a eficiência de encapsulação do ativo.
- Promover a caracterização dos sistemas poliméricos microparticulados, por meio de análises espectroscópicas, morfológicas e térmicas.
- Proceder a ensaios de liberação do princípio ativo *in vitro*.
- Avaliar os resultados de liberação dos princípios ativos.

4 MATERIAIS

4.1 Materiais

- Acetona: Procedência: Vetec, Grau de pureza: 99,5%. Tratamento: utilizado como recebido.
- Ácido fórmico: MM = 46,03 g.mol⁻¹, d = 1,220g.mL⁻¹. Procedência: Vetec. Grau de pureza: 85%. Usado como recebido.
- Ácido láurico: MM = 200,3178 g.mol⁻¹, d = 880 kg.m³. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.
- Ácido oleico: MM = 282,47 g.mol⁻¹, d = 895 kg.m³. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.
- Ar sintético: procedência White Martins
- Bissulfito de sódio: MM = 104,061 g.mol⁻¹, d = 1,48 g.cm³. Procedência: Vetec. Grau de pureza: 99%.
- Carbonato de sódio: Procedência: Reagen. Grau de pureza: 99%.
- Clorofórmio deuterado (CDCl₃): Procedência: Cambridge Isotopes Laboratories. Pureza: 99,8% contém 0,1% v/v de TMS.
- Cristal de brometo de potássio (KBr): dimensões 25mm x 6mm. Procedência: Wilmad.
- Dietilenoglicol (DEG): MM = 106,12 g.mol⁻¹, d = 1,1197 g.mL⁻¹. Procedência: Vetec. Grau de pureza: 99%.
- Dioleína: MM = 621,0 g.mol⁻¹. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%. Usado como recebido.
- Etanol PA: MM = 46,07 g.mol⁻¹, d = 0,790 g.mL⁻¹. Procedência: Biotec. Grau de pureza: 99,5%. Usado como recebido.
- Glicerol (glicerina): MM = 92,09 g.mol⁻¹, d²⁰ = 1,2613 g.mL⁻¹. Procedência: Synth. Grau de pureza: 99,5%.
- Hélio gasoso: Procedência: White Martins.
- Heptano: MM = 100,21 g.mol⁻¹, d = 684 kg.m³. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.
- Hidrogênio gasoso: Procedência: White Martins.
- Hidróxido de potássio: MM = 56,11 g.mol⁻¹, d = 2,4 g.cm⁻³. Procedência: Vetec. Grau de pureza: 85%. Usado como recebido

- Hidróxido de sódio (KOH): $MM = 39,997 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 2,13 \text{ g.cm}^3$. Procedência: Vetec. Grau de pureza: 99%.
- Ivermectina: $MM = 871,1 \text{ g.mol}^{-1}$. Procedência: Sigma. Grau de pureza: 99%.
- Lactídeo: $MM = 144,126 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 1,19 \text{ g.cm}^3$. Procedência: PURAC.
- Linoleato de etila: $MM = 308,506 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 0,876 \text{ g.mL}$. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.
- Monooleína: $MM = 356,547 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 0,94 \text{ g.cm}^3$. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.
- N,N,N',N'',N'''-Pentametil dietilenotriamina (PMDETA): $MM = 173,3 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 0,830 \text{ g.mL}^{-1}$. Procedência: Sigma. Grau de pureza: 99%. Usado como recebido.
- Nitrogênio gasoso: Procedência: White Martins.
- Nitrogênio líquido: procedência Departamento de Química UFPR.
- N-metil-N-trimetil siltrifluoracetamida (MSTFA): $MM = 199,248 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 1,11 \text{ g.cm}^3$. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.
- Octanoato de estanho: $MM = 405,12 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 1,251 \text{ g.mL}^{-1}$. Procedência: Sigma Aldrich. Grau de pureza: 95%. Usado como recebido.
- Óleo de milho refinado: $MM = 843,57 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 0,92 \text{ g.mL}^{-1}$. Procedência: Corn Products do Brasil. Usado como recebido.
- Óleo de rícino bruto: $MM = 929 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 0,958- 0,968 \text{ g.mL}^{-1}$. Procedência: Farmanilquima. Usado como recebido.
- Palmitato de metila: $MM = 270,45 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 0,91 \text{ g.cm}^3$. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.
- Peróxido de hidrogênio: $MM = 34,015 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 1,120 \text{ g.mL}^{-1}$. Procedência: Vetec. Grau de pureza: 30%. Usado como recebido.
- Piridina: $MM = 79,1 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 982 \text{ kg.m}^3$. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.
- Poli(caprolactona): $MM = 8000 \text{ g.mol}^{-1}$. Procedência: sintetizada pelo grupo de pesquisa LAMAP. Usado como recebido.
- Quercetina: $MM = 302,236 \text{ g.mol}^{-1}$. Procedência: Sigma. Grau de pureza: 99%.
- Rutina: $MM = 60,52 \text{ g.mol}^{-1}$. Procedência: Sigma. Grau de pureza: 99%.
- Silicone: Procedência: Synth, viscosidade: 50 cps. Usado como recebido

- Sulfato de sódio anidro: $MM = 142,04 \text{ g.mol}^{-1}$, Procedência: Vetec. Grau de pureza: 99%.
- Tetrahidrofurano (THF): Procedência: Dinâmica – Química Contemporânea Ltda, Grau de pureza: 99%, Tratamento: utilizado como recebido.
- Tricaprina: Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.
- Trioleína: $MM = 885,432 \text{ g.mol}^{-1}$, $d = 0,95 \text{ g.cm}^3$. Procedência: Sigma-aldrich. Grau de pureza: 99%.

4.2 Equipamentos

- Agitador mecânico Fisaton.
- Analisador térmico - Calorimetria exploratória diferencial (DSC) – Netzch, modelo DSC 200F3 MAIA.
- Aparelhagem comum de laboratório.
- Balança analítica – And, modelo HR-120.
- Balança analítica digital – Micronal, modelo B600.
- Cromatografia de exclusão de alta eficiência (CEAE- HPSEC)- Waters in-line degasser AF, Waters 1515 Isocratic HPLC pump, Waters 2487 Dual λ absorbance Detector, Waters 2414 refractive index detector. Coluna TSK e Stryragel 100 acopladas em série.
- Cromatógrafo a gás Thermo Trace 1310. Gás de arraste Nitrogênio 5,0. Detector de ionização de chama, Coluna select biodisel para gliceróis 30 m x 0,25 mm.
- Difrátômetro de raios X Shimadzu XRD-6000, scan de $2^\circ.\text{min}^{-1}$ e 2θ de 3° a 60° , radiação $K\alpha$ de cobre ($\lambda=1,5418\text{\AA}$), corrente de 40 mA e voltagem de 30 kV.
- Espectrofotômetro de ultravioleta-visível: Cary, modelo 100 Scan UV.
- Espectrofotômetro UV VIS SHIMADZU 10 UV Scanning.
- Espectrômetro de Infravermelho com transformada de Fourier – Bomem MB Series.
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear RMN: Bruker, 200MHz e 400MHz.
- Evaporador rotativo.

- Microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 6360 LV, sendo empregadas voltagens de 10 ou 15 kV.
- Placa de aquecimento e agitação magnética – Corning Stirrer / Hot Plate.
- Reômetro Brookfield DV-III ultra programmable Rheometer

5 MÉTODOS E TÉCNICAS

5.1 Síntese dos polióis à base de óleo de milho

5.1.1 Síntese do éster de óleo de milho

A reação de transesterificação do óleo de milho em catálise alcalina foi conduzida em balão de vidro de fundo redondo com capacidade para 250 mL, sob refluxo, ao qual foram acondicionados 60 g do óleo. Previamente, o catalisador KOH (0,5% m/m em relação à massa do óleo) foi solubilizado a 80°C, em dietilenoglicol (DEG) para a formação do alcóxido [82, 83]. Em seguida, a mistura foi adicionada ao óleo, sob agitação magnética, com tempo, temperatura e relações molares distintas óleo/DEG conforme planejamento Taguchi (Tabela 2). Após o período reacional, a emulsão foi transferida para um funil de separação para que ocorresse a estabilização com posterior separação de fases. A glicerina, subproduto da reação, foi separada do produto por partição com água. O éster do óleo de milho foi seco com sulfato de sódio anidro e posteriormente filtrado em papel de filtro convencional.

Para a preparação do óleo de milho transesterificado foram realizadas várias formulações visando uma composição ideal com o intuito de obter alta conversão em monoacilgliceróis. Para tanto, aplicou-se uma metodologia robusta na qual um menor número de experimentos é realizado, porém com uma maior tendência às melhores conversões, levando em consideração os principais parâmetros influenciadores que levam aos melhores resultados. O procedimento geral foi conduzido, tendo como níveis mínimos e máximos as temperaturas de 150 a 200°C, visto que previamente já se conhecia a melhor faixa de aplicação para as melhores conversões, os percentuais de catalisador, variando de 0,1 a 0,5% (m/v) em relação ao volume de óleo empregado, as razões molares entre álcool e óleo, com variação de 3:1 a 9:1 e os tempos reacionais variando de 2 a 6h. Tal proposta de aplicação está apresentada a seguir.

TABELA 2 - PLANEJAMENTO FATORIAL TAGUCHI PARA AS REAÇÕES DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Experimento	Relação DEG/ÓLEO	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Catalisador (%)
1	3:1	150	2	0,1
2	3:1	175	4	0,3
3	3:1	200	6	0,5
4	6:1	150	4	0,5
5	6:1	175	6	0,1
6	6:1	200	2	0,3
7	9:1	150	6	0,3
8	9:1	175	2	0,5
9	9:1	200	4	0,1

5.1.2 Síntese do derivado epoxidado do óleo de milho

O procedimento experimental foi conduzido mediante procedimento descrito na literatura [84]: em um balão, provido de agitação magnética ou mecânica foram adicionados o ácido fórmico e o óleo de milho, sob temperatura ambiente, cujo esquema está apresentado na Figura 14. Em funil de adição foi adicionado, lentamente, peróxido de hidrogênio (30%). Ao final da adição, a temperatura foi elevada para 40°C, e mantida constante, até que a reação se completasse. O tempo total foi de 4h. Posteriormente a mistura reacional foi vertida em um funil de separação para a separação de fases. À fase orgânica foi adicionado sulfato de sódio anidro para a retirada de umidade. A seguir o material foi filtrado sob vácuo. Foi adicionado diclorometano para diminuir a viscosidade do material e facilitar o procedimento de filtração e posteriormente, o solvente foi retirado em um rotaevaporador.

O produto epoxidado hidroxilado obtido nesta etapa, apresentou-se com coloração alaranjada e de baixa viscosidade.

FIGURA 14 - BALÃO ONDE OCORREU A REAÇÃO DE EPOXIDAÇÃO. FASE SUPERIOR CONTÉM O ÓLEO DE MILHO E A FASE INFERIOR, UMA MISTURA DE ÁCIDO FÓRMICO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO.



5.2 Síntese dos polímeros e copolímeros a partir do lactídeo e caprolactona

5.2.1 Síntese do poli(lactídeo) – PLAC

A polimerização foi conduzida de acordo com métodos previamente relatados na literatura [85, 86, 87]. Em reator apropriado, previamente seco e sob atmosfera de nitrogênio, quantidades calculadas de lactídeo e de octanoato de estanho foram adicionadas. O reator foi selado e imerso em banho de óleo a 120 °C pelo período de 6 horas. Após o término do tempo reacional, a mistura foi resfriada e, o polímero, precipitado em metanol gelado, filtrado e seco a temperatura ambiente, sob pressão reduzida. A reação é representada na Figura 15.

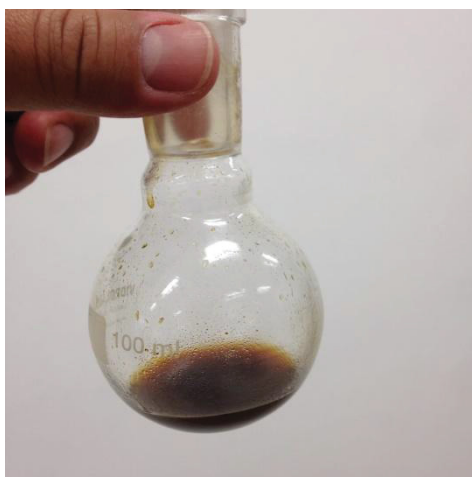
FIGURA 15 - ESQUEMA DE OBTENÇÃO DO POLÍMERO PLAC A PARTIR DO LACTÍDEO [87].



5.2.2 Reação de copolimerização entre o polioli do óleo de milho e o polímero PLAC

A reação entre o polioli derivado de óleo vegetal e o poli(lactídeo) foi conduzida de acordo com métodos relatados na literatura [86]. Em balão de vidro apropriado, previamente seco e sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados o polioli, o poli(lactídeo) sintetizados e o catalisador octanoato de estanho. O reator foi selado e imerso em banho de óleo a uma faixa de temperatura de 120°C a 130°C por período de 6 horas. Após o término do tempo reacional, a mistura foi resfriada e, o polímero obtido, solubilizado em acetona e precipitado em metanol gelado, posteriormente filtrado e seco a temperatura ambiente e sob pressão reduzida [69], obtendo-se um produto com aspecto amarelo escuro (Figura 16).

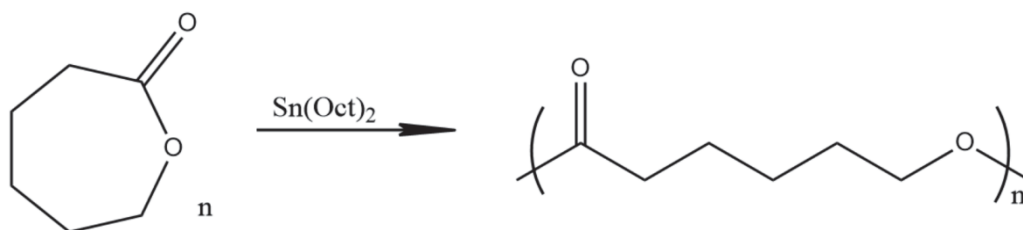
FIGURA 16 - ASPECTO DO PRODUTO RESULTANTE DA COPOLIMERIZAÇÃO ENTRE O POLIOL DO ÓLEO DE MILHO E O PLAC.



5.2.3 Reação de polimerização entre caprolactona e óleo de rícino *in natura*

Primeiramente, foram adicionados, em tubo de *schlenke*, 1,0mL (1,20g) de ϵ -caprolactona com a quantidade de óleo determinados na Tabela 3. O referido tubo foi fechado e colocado em atmosfera de nitrogênio. Esta atmosfera foi trocada três vezes e a reação de polimerização procedida, sob agitação e aquecimento, por 30 minutos, na temperatura de 150°C.

Na Figura 17, pode-se observar a reação esquemática da polimerização da ϵ -caprolactona, a qual ocorre pela abertura do anel [73].

FIGURA 17 - ESQUEMA DE POLIMERIZAÇÃO DA ϵ -CAPROLACTONA [73].

Decorrido o período reacional e de posse da poli(caprolactona), foram adicionados óleo de rícino (com proporções apresentados na Tabela 3) e o catalisador octanoato de estanho ($[\text{Sn}(\text{Oct})_2]$), na proporção de 1:2000 em relação à ϵ -caprolactona com a temperatura mantida em 110°C . A copolimerização se mostrou completa quando a agitação foi interrompida espontaneamente devido ao aumento da viscosidade. Foram adicionados 6,0 mL de diclorometano para solubilização do polímero com posterior adição de metanol gelado para a precipitação do produto. O produto final foi seco à vácuo e posteriormente pesado [88, 89].

TABELA 3 - CONDIÇÕES DE POLIMERIZAÇÃO.

<i>Proporção</i>	<i>Quantidade de óleo (g)</i>	<i>caprolactona (mg)</i>	<i>Sn(Oct)₂ (μL)</i>	<i>Diclorometano (mL)</i>	<i>Metanol (mL)</i>
1:15	0,16	1,0	1,47	--	--
1:30	0,11	1,0	1,47	6,0	4,0
1:60	0,05	1,0	1,47	6,0	4,0

5.3 Encapsulação de ativos em micropartículas de poli(lactídeo), poli(caprolactona) e em copolímero de óleo de rícino

As micropartículas poliméricas contendo os ativos: ivermectina, quercetina e rutina foram formuladas através do método da emulsão simples com evaporação do solvente a partir dos polímeros poli(lactídeo) – PLAC, poli(caprolactona) - PCL e copolímero de poli(caprolactona) e óleo de rícino -

(PCLOR) conforme preconizado na literatura [90] e representado através da Figura 18.

FIGURA 18 - SISTEMA DE AGITAÇÃO MECÂNICA APLICADA PARA A ENCAPSULAÇÃO DOS PRINCÍPIOS ATIVOS.



Em um volume de 40 mL de clorofórmio foram solubilizados simultaneamente 0,5g do PLAC, PCL ou PCLOR, originando uma solução 5% (m/V) e 0,15g do ativo correspondente. Posteriormente, a solução inicial foi adicionada sobre 50 mL de uma solução aquosa de PVAI a 2% (m/V) sob vigorosa agitação mecânica de 5000 rpm por 5 minutos, sendo utilizado um agitador mecânico de haste longa, a uma temperatura de 35°C.

Com a formação de uma emulsão estável (ausência de separação de fases), o solvente (clorofórmio) foi evaporado totalmente em capela sob agitação de 1000 rpm por 1 hora. A suspensão de micropartículas foi centrifugada em 8000 rpm por 15 minutos e, em seguida, o sobrenadante foi armazenado em frascos separados e as micropartículas foram lavadas duas vezes com água destilada

para retirada do resíduo de PVAI. Após cada lavagem, as amostras foram centrifugadas a 15000 rpm durante 15 minutos. As micropartículas foram secas em placas de Petri sob temperatura ambiente, para a posterior caracterização.

5.3.1 Eficiência de encapsulação: método indireto

A eficiência de encapsulação dos ativos foi obtida para as formulações de PCL/IVERMECTINA, PLAC/IVERMECTINA, PCLOR/IVERMECTINA, PCL/RUTINA, PLAC/RUTINA, PCLOR/RUTINA, PCL/QUERCETINA, PLAC/QUERCETINA e PCLOR/QUERCETINA, pelo método indireto, por meio da quantificação da ivermectina presente nos sobrenadantes armazenados provenientes de cada formulação.

A determinação foi feita por espectrofotometria na região do ultravioleta, em espectrofotômetro (Shimadzu), na faixa de absorção de 800 a 200 nm, utilizando cubetas de quartzo de 1cm de caminho ótico [91]. Para a quantificação dos compostos, presente nas soluções aquosas de PVAI, foi elaborada uma curva analítica utilizando onze soluções de cada ativo em uma faixa de concentração entre $3,75 \text{ mg.mL}^{-1}$ e $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mg.mL}^{-1}$, em solução aquosa de poli(álcool vinílico) (PVAI) a 2% (m/V), sendo que os valores de absorbância máxima foram adquiridos em 245, 420 e 325 nm respectivamente para ivermectina, rutina e quercetina. Para o preparo das soluções padrão foram, inicialmente, preparadas soluções dos ativos na concentração de $4,285 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em solução aquosa de PVAI. A partir desta solução estoque foram realizadas diluições para obter soluções menos concentradas.

A concentração dos ativos presentes nos sobrenadantes oriundos da etapa de encapsulação foi obtida a partir da leitura em UV VIS e as massas encapsuladas nos polímeros determinadas através das curvas analíticas de cada ativo. Todas as quantificações dos ativos foram realizadas em duplicata.

5.4 Caracterização dos produtos: óleo, derivados e microcápsulas

5.4.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os polióis obtidos a partir do óleo de milho foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho utilizando o espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier Biorad, modelo Excalibur Series. Os espectros foram obtidos com uma resolução de 4 cm^{-1} , 32 scans e número de onda de $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$. Utilizando cristal de brometo de potássio com dimensões de $25\text{mm} \times 6\text{mm}$. Para as amostras líquidas foi utilizado cristal de KBr enquanto para as sólidas pastilhas do mesmo sal.

5.4.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C

Utilizando espectrômetro de ressonância magnética nuclear- Bruker 200 MHz, o óleo de milho e os polióis à base de óleo de milho foram caracterizados para a obtenção de espectros de ^1H e de ^{13}C . As amostras foram preparadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) com 0,1% de TMS, usado como referência.

5.4.3 Determinação do índice de acidez- dosagem de grupos carboxila (norma ASTM D664)

Em um erlenmeyer de 125 mL de capacidade, foram pesados, aproximadamente, 1g de amostra e, a ela, foram adicionadas 3 gotas de solução etanólica de fenolftaleína, 1% m.v^{-1} . Em seguida, a mistura foi titulada com solução metanólica de hidróxido de potássio 0,5 M, previamente padronizada com solução de biftalato de potássio, até coloração levemente rósea conforme Zawadzki, 1989. O experimento foi conduzido em triplicata. O índice de acidez é dado pela seguinte expressão (Equação 2).

$$I.A = \frac{V \times M \times f \times 56,11}{m} \quad (\text{mg de KOH.g}^{-1} \text{ amostra})$$

Equação 1

Em que:

V - volume em mL, gastos na titulação

M - molaridade da solução de KOH

f- fator da solução de KOH

m - massa em gramas da amostra

5.4.4 Cromatografia em fase gasosa (CG)

Para quantificação e indicação do grau de conversão dos triacilglicerois presentes no óleo bruto foram conduzidos experimento sem cromatografia em fase gasosa. Para tanto, foi utilizado um cromatógrafo da Thermo Scientific modelo Trace GC 1310, detector de ionização de chama com temperatura de 420°C, com N₂ como gás de arraste, split de 1:4, pressão constante, temperatura no vaporizador de 410°C. Foi usada uma coluna select biodiesel (CP9078) 15 m x 0,32 mm X 0,45 mm, empregando rampa de aquecimento de 40 a 400°C com velocidade de aquecimento de 4°C.min⁻¹ e tempo total de análise de 40 minutos. Foi usado um amostrador automático para a injeção de 1,5 µL em cada análise.

5.4.5 Ensaio de reologia do óleo de milho e dos polióis à base de óleo de milho

O estudo reológico foi aplicado aos polióis e para o óleo de milho em função da taxa de cisalhamento. As condições empregadas nos experimentos conduzidos em Reômetro Brookfield DV- III foram: as amostras acondicionadas em um recipiente cilíndrico de aço em banho termostatizado de glicerol e água. Foram adicionados cerca de 20 mL de amostra e utilizado um spindle SC4-18 (tensão de cisalhamento de 30 a 80 D.cm⁻²), velocidade de 2,60 rpm, taxa de cisalhamento de 3,43 s⁻¹. A temperatura de análise manteve-se constante em 25°C.

5.4.6 UV VIS

A eficiência de encapsulação (%) dos ativos foi determinada pelo método indireto e da liberação *in vitro*, por meio da quantificação dos ativos presentes nos sobrenadantes após centrifugação e das alíquotas tomadas durante o período da

avaliação da liberação *in vitro*. A determinação foi feita por espectrofotometria na região do ultravioleta, em espectrofotômetro (Shimadzu), na faixa de absorção de 800 a 200 nm, utilizando cubetas de quartzo de 1cm de caminho ótico. Para a quantificação do composto, presente nas soluções aquosas foram elaboradas curvas analíticas conforme descrito anteriormente.

5.4.7 Difração de raios X (DRX)

Os materiais foram analisadas em difratômetro de raios X Shimadzu XRD-6000, com scan de 2θ , de 3° a 60° , com varredura de 1° por minuto, radiação $k\alpha$ de cobre ($\lambda = 1,54\text{\AA}$), corrente de 40mA e voltagem 30 kV, para a observação de padrões de cristalinidade.

5.4.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Amostras das micropartículas foram fixadas em suportes adequados e submetidas à metalização com ouro para posteriormente serem visualizadas por microscópio eletrônico de varredura- Baltec, modelo SDC005- Sputter Coater e fotografadas por microscópio eletrônico- Jeol, modelo JSM- 6360V para verificar a morfologia das espumas.

5.4.9 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise por DSC foi realizada no equipamento Netzsch modelo 200 F3 Maia e as amostras foram submetidas à programação de temperatura de aquecimento e de resfriamento de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e varredura de $-50\text{ }^\circ\text{C}$ a $250\text{ }^\circ\text{C}$. Uma massa de 10 mg da amostra foi pesada e colocada em cadinho de alumínio fechado, sendo levada ao aparelho juntamente com um cadinho vazio como referência. A análise foi realizada sob fluxo de N_2 a uma taxa de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

5.4.10 Cromatografia por exclusão de tamanho (GPC)

O preparo da amostra foi realizado com a pesagem dos polímeros, os quais foram dissolvidos em tetrahidrofurano (THF). Após a completa dissolução, o material foi filtrado em filtro de seringa de 13 mm, com membrana de teflon e porosidade de 0,22 μm (millipore). O filtrado foi recebido em frasco para análise (vial), fechado e armazenado até injeção. O mesmo procedimento foi aplicado aos padrões de poliestireno de massa molar conhecida, sendo cada padrão preparado em balão independente para calibração.

A cromatografia foi realizada em dois sistemas. No primeiro, o foco foi a determinação da massa molar com base no detector de espalhamento de luz, enquanto que, no segundo, foi empregado o método da calibração universal. O sistema 1 foi composto por um cromatógrafo líquido Viscotek, equipado com uma coluna Viscotek I-MBLMW-3078 (300 x 7,8 mm), e detectores por índice de refração, viscosidade, UV e espalhamento de luz. A fase móvel empregada foi o tetrahidrofurano a uma vazão de 0,8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, temperaturas da coluna e do detector refração 30 °C. O sistema 2 foi composto por um cromatógrafo líquido Waters 1515, com detector por índice de refração (Waters 2487) e colunas TSK 1000 e Styragel 100 acopladas em série. A fase móvel, tetrahidrofurano (THF), foi empregada a uma vazão de 0,8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e temperatura das colunas ajustadas a 40 °C.

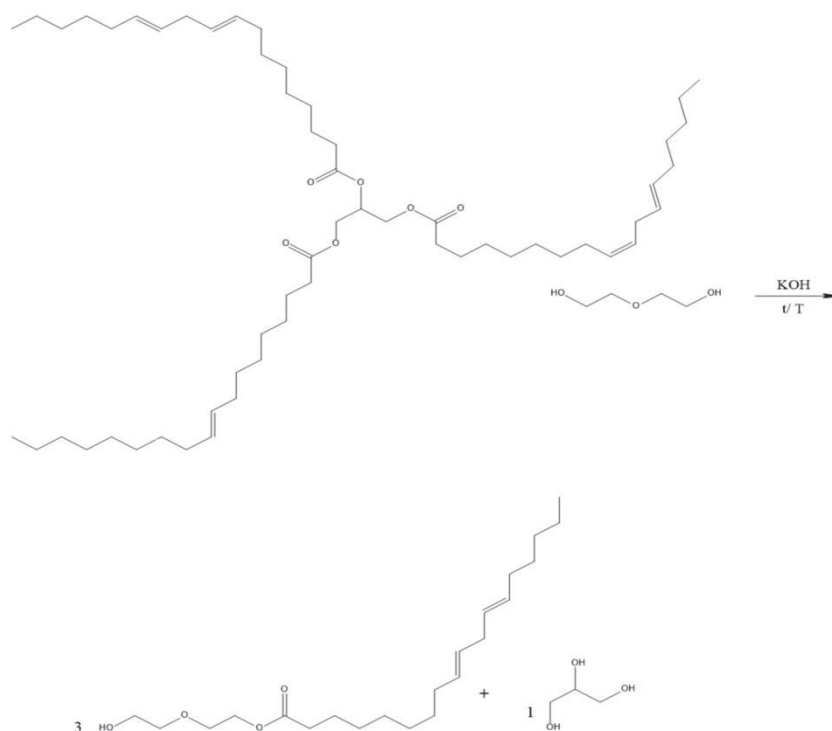
O valor empregado de dn/dc (taxa de resposta do detector do índice por refração em relação à concentração) do poli(ácido láctico) em THF foi de 0,042 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, e as constantes de Mark-Houwink, $a = 0,689$ e $K = 2,59 \times 10^{-4}$ [42] De posse destas constantes, foi possível o cálculo dos valores de M_n (massa molar numérica média) e M_w (massa molar ponderal média) pelo método de calibração universal que emprega o poliestireno, assim como a calibração absoluta através do detector de espalhamento de luz.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Síntese do éster do óleo de milho

A primeira modificação realizada no óleo de milho foi a reação de transesterificação. Essa reação possui, como característica base, a conversão de um éster em outro, pela reação com um álcool. A transesterificação de óleos vegetais vem sendo muito empregada na indústria de alimentos, higiene pessoal, lubrificantes e na produção de biocombustíveis, para obter produtos de origem natural e fonte renovável [93, 94]. A transesterificação abordada consiste na reação entre o dietilenoglicol (DEG) e triacilglicerol (Figura 19). Neste caso, o DEG dá origem ao seu alcóxido correspondente, que fará um ataque nucleofílico ao carbono do éster do óleo. Esse processo deve ocorrer nos três grupamentos éster da molécula, dando origem a três moléculas de óleo de milho transesterificado (OMT) e uma molécula de glicerol, como subproduto.

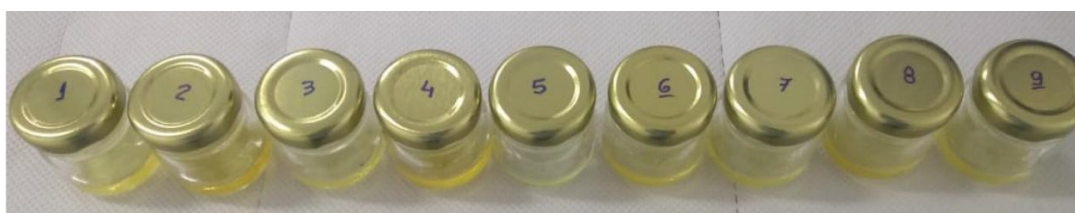
FIGURA 19 - ESQUEMA DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DO ÓLEO DE MILHO COM O DIETILENOGLICOL.



Vale salientar que, para a reação de transesterificação supracitada, além da formação de monoacilglicerois, também poderá ocorrer a formação de diacilglicerois.

Foram realizadas 9 reações conforme planejamento Taguchi e todos os produtos apresentaram aspecto amarelo (Figura 20), semelhante ao óleo de partida.

FIGURA 20 - ASPECTO DOS PRODUTOS OBTIDOS ATRAVÉS DA TRANSESTERIFICAÇÃO.



6.2 Caracterização dos poliois à base de óleo de milho

O óleo de milho e os respectivos derivados transesterificados foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), ressonância magnética nuclear (RMN ^1H e ^{13}C), índice de acidez, calorimetria exploratória diferencial (DSC), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e reologia, cujos resultados estão apresentados a seguir.

6.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Foram realizadas análises para todos os produtos transesterificados, porém são apresentados os espectros apenas de 3 dos 9, visto que apresentam perfis semelhantes. Os espectros de infravermelho apresentaram bandas pronunciadas em 3500 cm^{-1} referentes às deformações axiais das hidroxilas e em 1760 cm^{-1} correspondentes às deformações angulares em maior ou menor intensidade. Tais intensidades variaram de acordo com tempo reacional, temperatura e proporção conforme apresentado no planejamento Taguchi.

É possível ressaltar o fato de que, para algumas condições experimentais, houve uma intensificação da banda em 3500 cm^{-1} , característica das hidroxilas,

sugerindo uma maior presença de cadeias modificadas após a transesterificação. Na Figura 21 é possível verificar os espectros do óleo de partida bem como de seus produtos.

FIGURA 21 - ESPECTROS DE FTIR: (a) ÓLEO DE MILHO PURO (OMIP), (b) OMT1, (c) OMT2 e (d) OMT3.

FIGURA 21a - AMOSTRA DE ÓLEO DE MILHO PURO

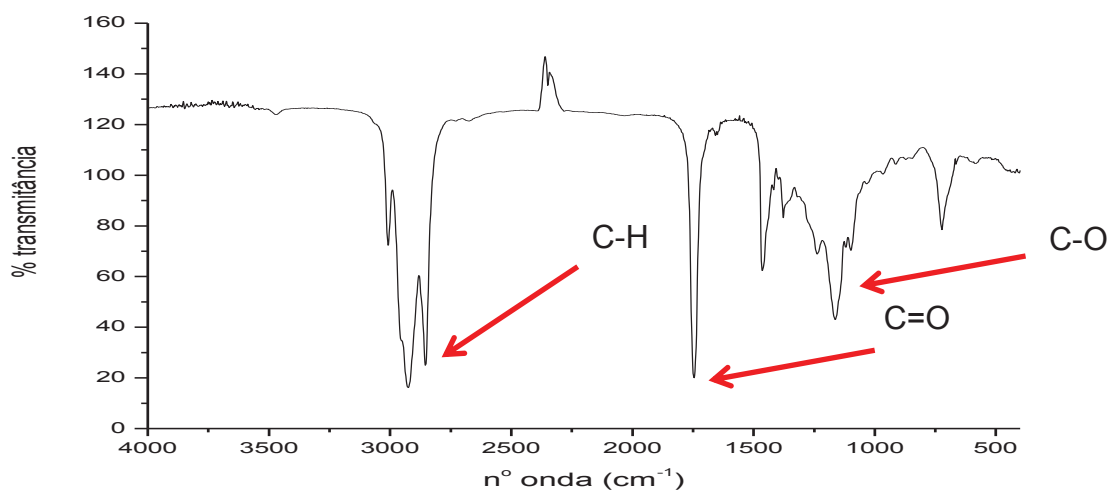


FIGURA 21b - AMOSTRA (OMT1)

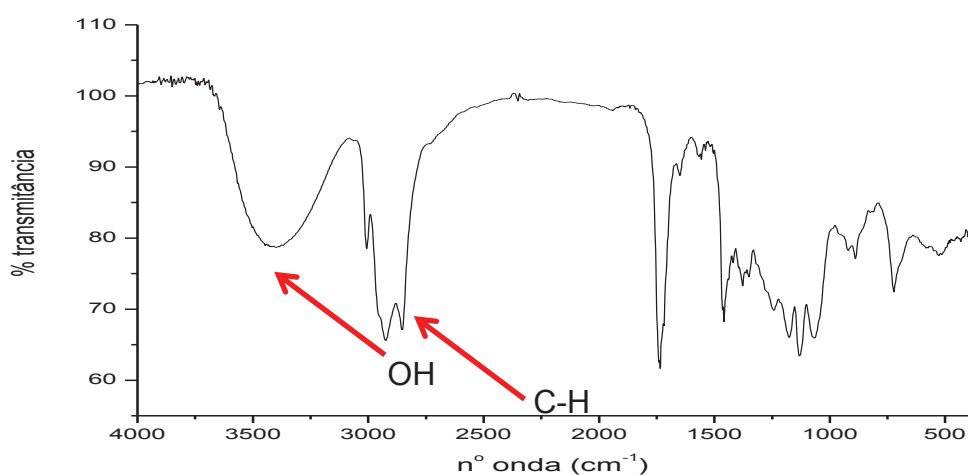


FIGURA 21c - AMOSTRA (OMT2)

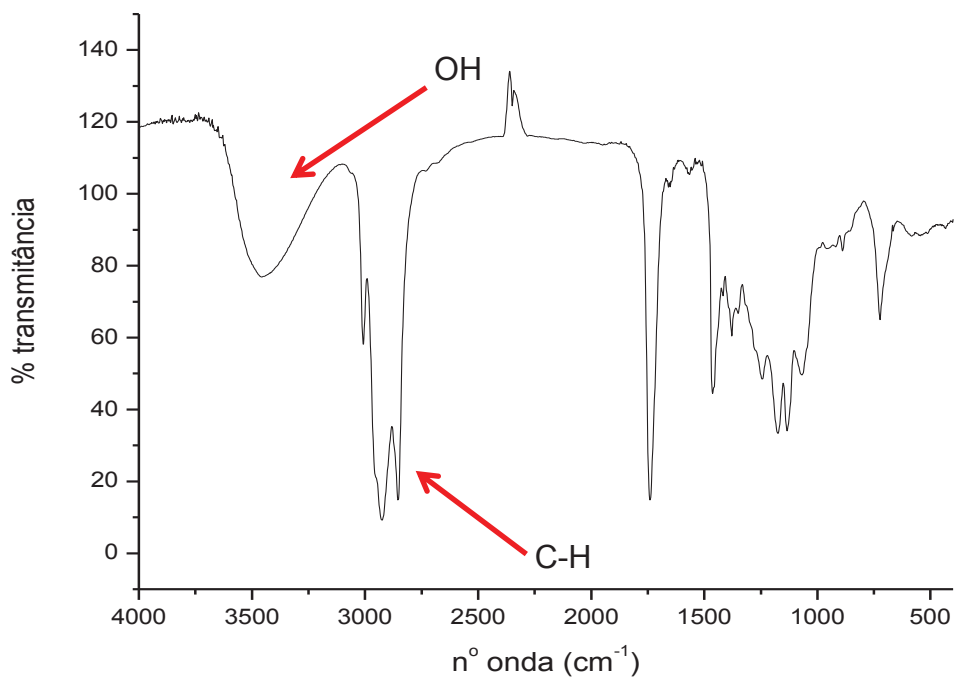
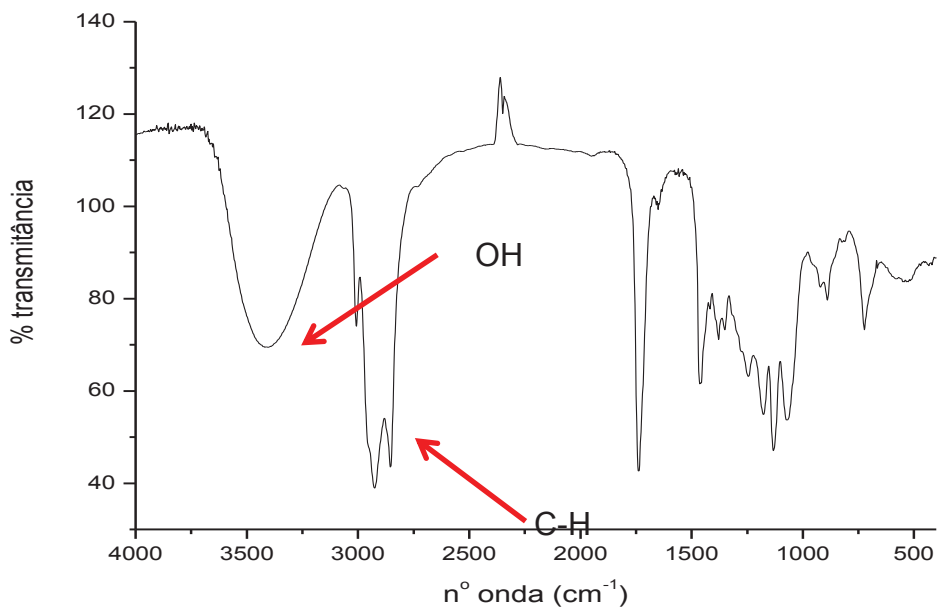


FIGURA 18d - AMOSTRA (OMT3)



Uma avaliação prévia comparativa entre os espectros do óleo de milho e seus derivados transesterificados permite verificar bandas semelhantes referentes ao estiramento $\text{CHCH}=\text{CH}$ em 3000 cm^{-1} , a presença das bandas de deformação

simétrica e assimétrica de CH em 2929 e 2853 cm^{-1} e deformação simétrica de CH_3 em 849 cm^{-1} .

Ainda, a presença, em menor intensidade, da banda referente às olefinas cis em 714 cm^{-1} e principalmente a intensificação da banda de hidroxila nos derivados transesterificados sugere que o ataque nucleofílico do alcóxido à carbonila resultou em produtos nas formas monoacil e diacilglicerol e que a reação de transesterificação tenha de fato ocorrido.

6.2.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C

Nas Figuras 22 e 23 são apresentados os espectros de ^1H e de ^{13}C comparativos entre o óleo de milho puro (OMIP) e o óleo de milho transesterificado (OMT1 e OMI2).

Os espectros de ^1H relativos ao óleo de milho puro evidenciam deslocamentos químicos típicos de hidrogênios de duplas ligações em $\delta = 4,3$ ppm e em $\delta = 5,3$ ppm refere-se aos prótons olefínicos, sua baixa intensidade está relacionada à quantidade de ésteres insaturados presentes. Hidrogênios alílicos presentes na cadeia do óleo precursor são observados em $\delta = 2,1$ ppm assim como um conjunto de sinais de 1,3 a 1,7 ppm correspondem aos hidrogênios característicos de ácidos graxos presentes no triacilglicerol [34]. Não são observados deslocamentos químicos referentes ao glicerol, produto da transesterificação.

No espectro de RMN ^1H do óleo transesterificado (Figura 22b e 22c), observa-se o mesmo padrão de sinais na região entre 1,0 e 2,0 ppm, caracterizando a semelhança com a composição química do óleo de milho puro. A confirmação da transesterificação óleo foi obtida pela observação dos sinais em 4,1 ppm, um quarteto, referente ao acoplamento dos hidrogênios oriundos do alcóxido com os hidrogênios presentes no grupo éster.

A título de comparação são apresentados dois espectros de óleos transesterificados. No entanto não são notadas diferenças significativas, com relação aos espectros dos produtos obtidos pelas demais condições experimentais não apresentadas no presente documento.

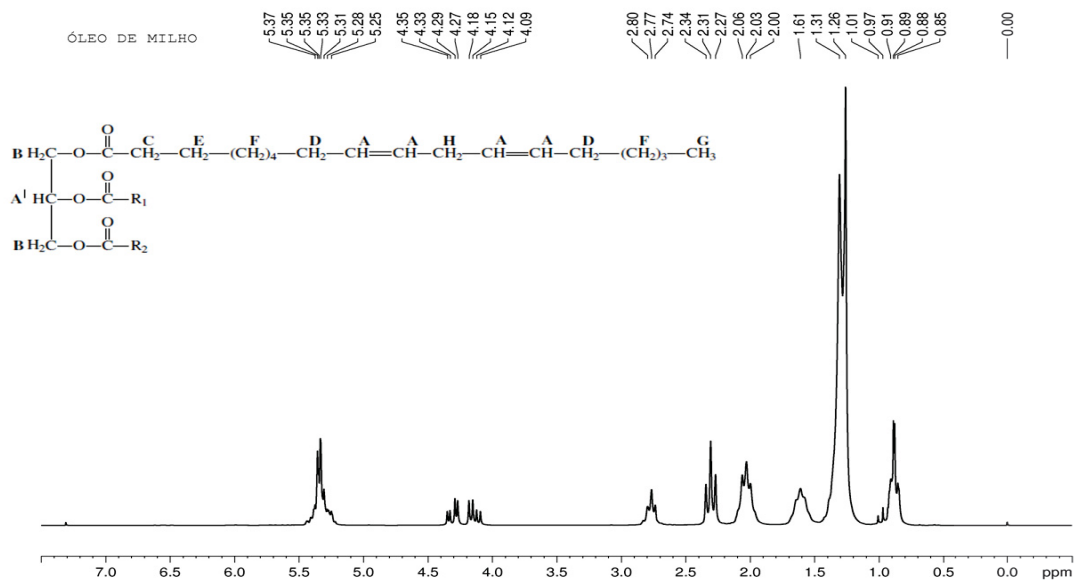
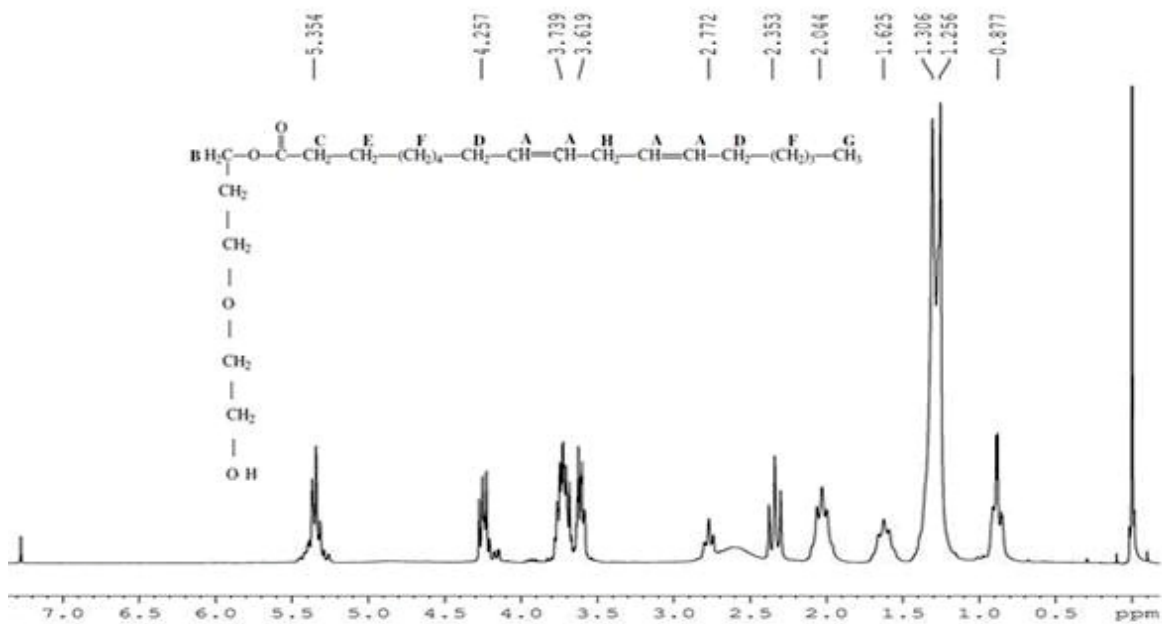
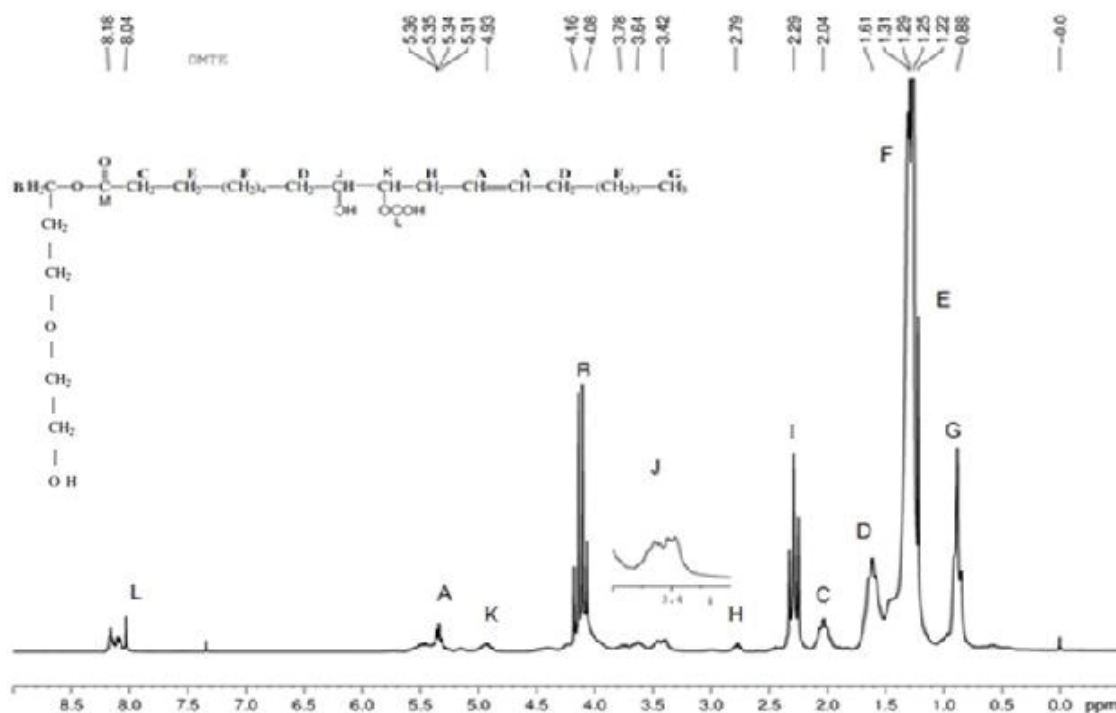
FIGURA 22 - (a) ESPECTRO ^1H REFERENTE AO ÓLEO DE MILHO PURO (OMIP).FIGURA 22b - ESPECTRO ^1H OMT1.

FIGURA 22c - ESPECTRO ^1H OMT2.

A análise do óleo de milho por RMN ^{13}C apresenta um espectro (Figura 23) com quatro regiões com deslocamentos químicos distintos: 173 ppm referente aos carbonos de carboxila, 130 e 128 ppm característico de carbono olefínicos, 68 e 61 ppm carbonos do triacil e 33 ppm para carbonos alifáticos saturados. Sendo que: em 29,75 ppm encontram-se os grupamentos CH_2 , em 27,41 ppm os CH_2 alílicos externos à $\text{C}=\text{C}$, em 25 ppm carbono β -carbonílico e as metilas em 14,29 ppm.

De forma semelhante ao descrito nos espectros de ^1H , foram realizadas análises para as demais condições experimentais para a transesterificação, no entanto também não foram notadas diferenças significativas entre as amostras.

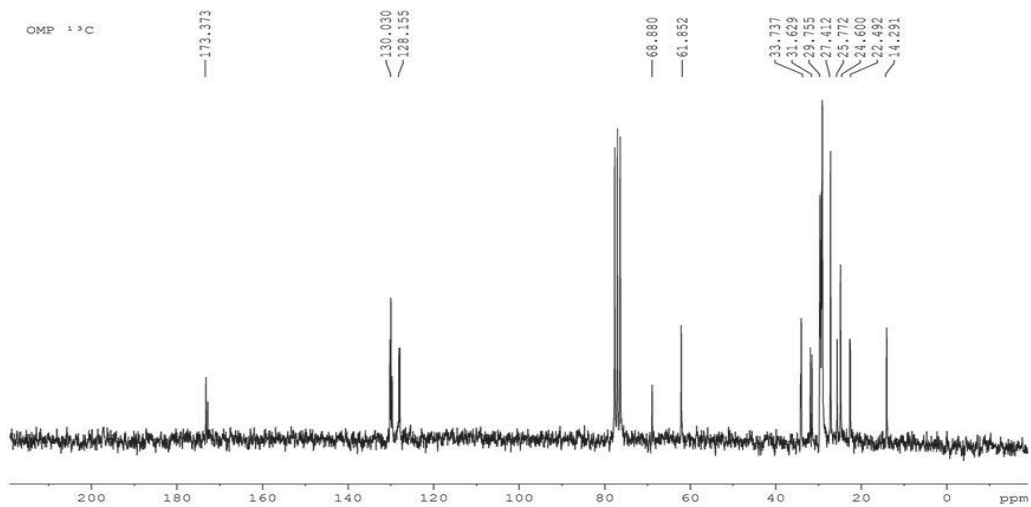
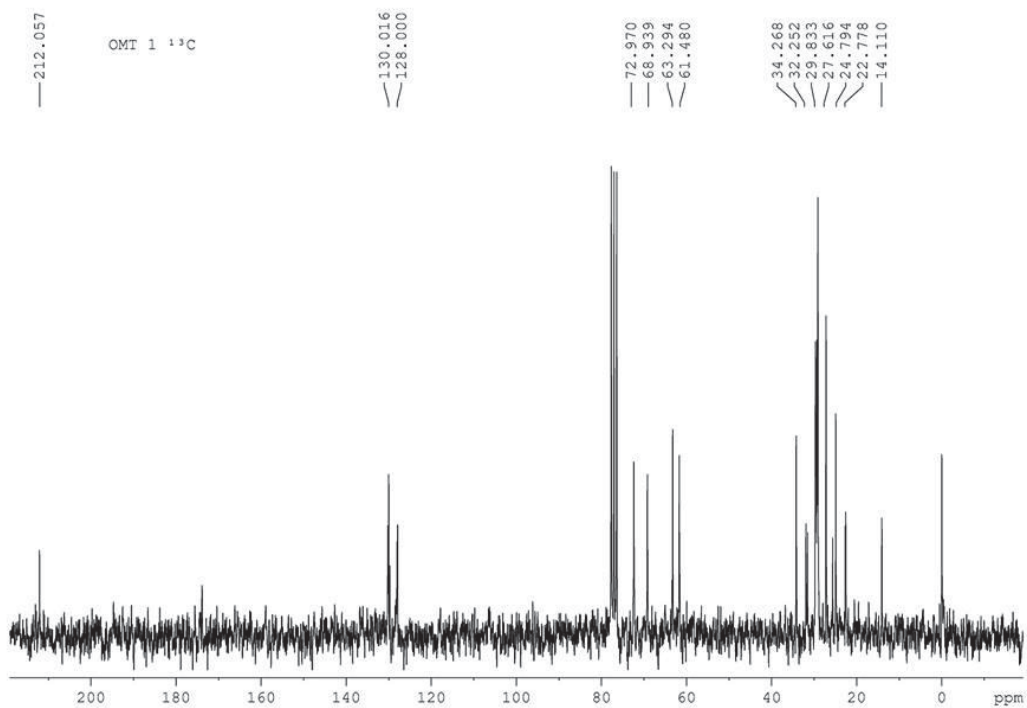
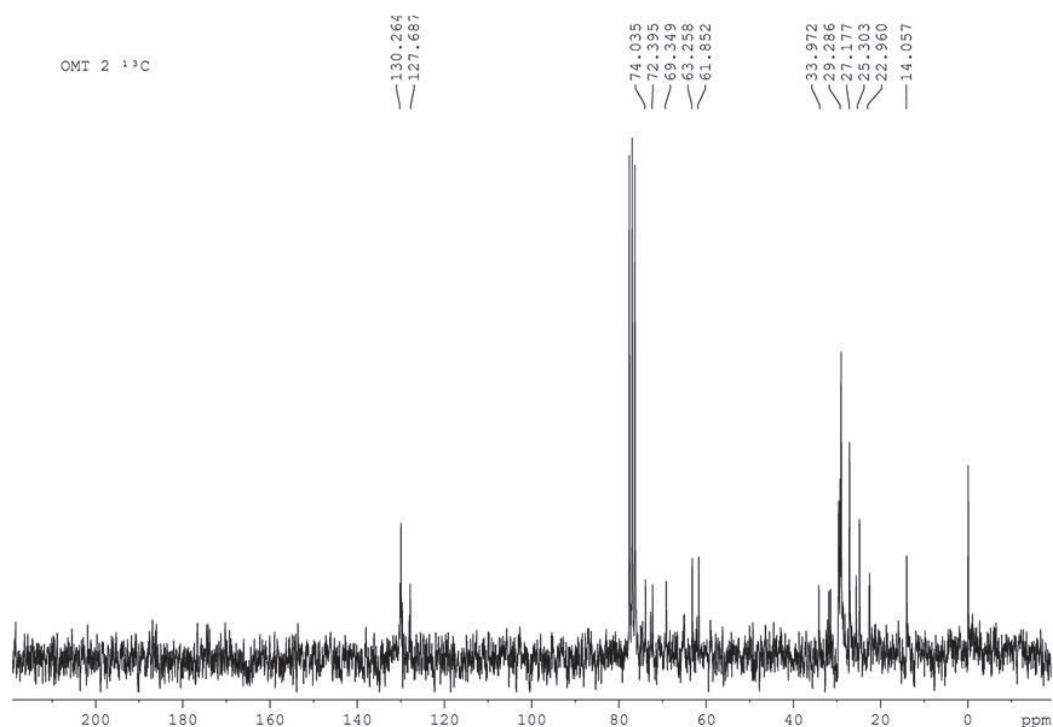
FIGURA 23 - (a) ESPECTRO ^{13}C REFERENTE AO ÓLEO DE MILHO PURO (OMIP).FIGURA 23b - ESPECTRO ^{13}C OMT1

FIGURA 23c - ESPECTRO ^{13}C OMT2

Assim, com os com espectros de RMN foi possível determinar que a reação de transesterificação ocorreu e que foram formados os polióis derivados do óleo de milho, pois observa-se dentre outros deslocamentos químicos, os sinais em 130 – 128 ppm característico de carbonos vinílicos bem como em 72 ppm referente a DEG residual utilizado no processo da transesterificação.

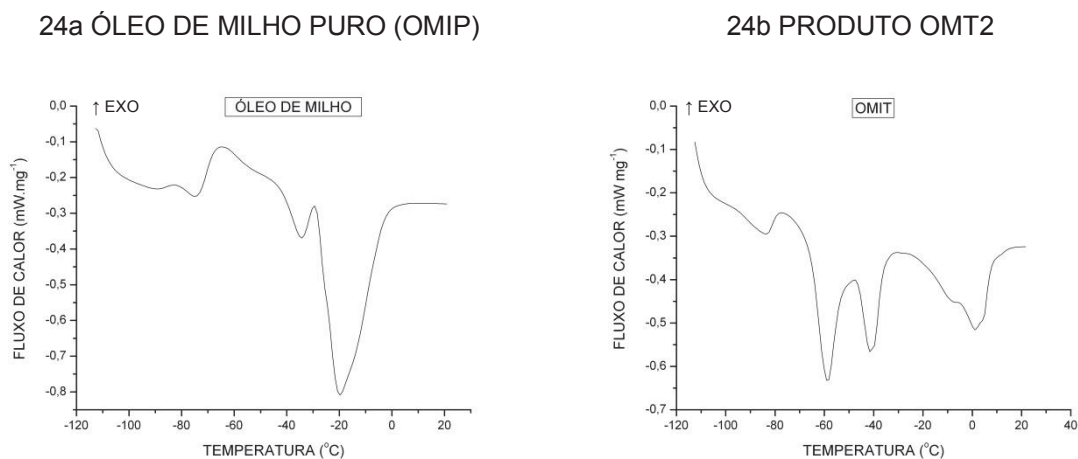
6.2.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O termograma do óleo de milho (Figura 24) apresenta eventos térmicos que se iniciam em temperaturas inferiores a zero grau, estando em concordância com o fato de que esses ácidos graxos são constituídos majoritariamente de ácidos oleico e linoleico, os quais apresentam baixos pontos de fusão.

Picos endotérmicos largos em temperaturas inferiores a -30°C na curva de resfriamento são atribuídos à formação de cristais de congelamento comumente associados com ésteres de ácidos graxos insaturados e, em temperatura entre -10 e -15°C , os quais consistem principalmente de ésteres de ácidos graxos saturados.

Contribuem para a composição do termograma, picos de menor intensidade em -35°C e -75°C correspondentes às baixas concentrações dos ácidos esteárico e palmítico presentes no óleo de milho puro [44].

FIGURA 24 – CURVAS DE DSC PARA O ÓLEO DE MILHO PURO (24a) E ÓLEO DE MILHO TRANSESTERIFICADO OMT2 (24b)



Os ésteres provenientes da transesterificação apresentaram um aumento no número de componentes, visto que a reação originou mono e diacilgliceróis. As temperaturas de fusão foram significativamente discrepantes dos demais ésteres, há correspondentes de fusão em 2°C e -10°C referentes aos componentes saturados, e em -40°C e -55°C correspondentes a aos mono e diacilgliceróis. Portanto, o comportamento térmico difere quando comparado ao óleo de partida.

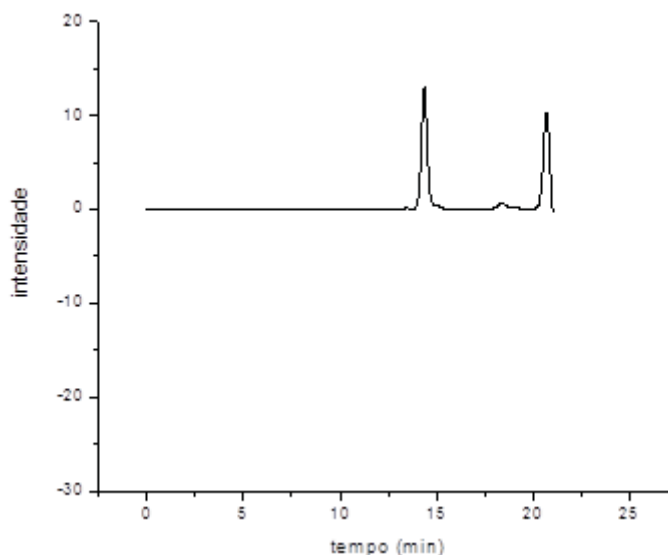
Assim, vale salientar que o processo de transesterificação modifica as propriedades térmicas do óleo derivado formado, já que está alterando a composição da amostra.

6.2.4 Cromatografia a Líquido de alta eficiência (CLAE)

As análises realizadas por CLAE apresentaram resultados a partir dos foi possível apontar os principais componentes presentes no produto transesterificado. A partir do cromatograma do óleo de milho puro (Figura 25) é possível evidenciar um pico referente ao triacilglicerol em 14 minutos.

FIGURA 25 – CROMATOGRAMAS OBTIDOS VIA CLAE PARA ÓLEO DE MILHO PURO E DERIVADOS TRANSESTERIFICADOS.

FIGURA 25a: ÓLEO DE MILHO PURO (OMIP)



Os triacilgliceróis (TAGs) presentes no óleo de milho apresentam grande interação com o poliestireno constituinte da coluna gerando um tempo de retenção conforme supracitado. Os TAGs apresentam três cadeias hidrocarbônicas, que devido a seu tamanho, ficam menos tempo retidos na coluna cromatográfica e eluem em tempo menor, separando-se dos componentes de massas molares menores. Forças de dispersão são responsáveis pela interação entre as cadeias hidrocarbônicas dos constituintes do óleo e da coluna cromatográfica. Em virtude dessa interação, os tempos de retenção são distintos.

Quanto maior o número de ligações duplas presentes nos compostos, menor é a interação da cadeia hidrocarbônica, portanto, conforme cromatograma, em torno de 20min eluem os ácidos oleico e linoleico presentes na amostra [13].

A seguir são apresentados os cromatogramas para as condições de transesterificação referentes aos óleos de milho transesterificados: OMT1, OMT2 e OMT3 uma vez que as demais amostras apresentaram comportamentos similares.

FIGURA 25b: OMT1

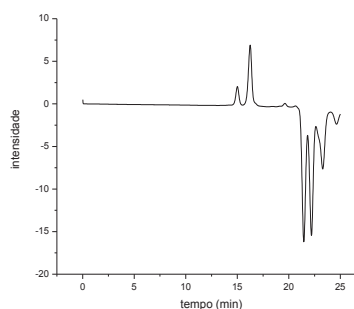


FIGURA 25c: OMT2

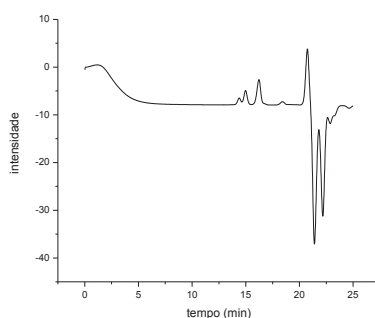
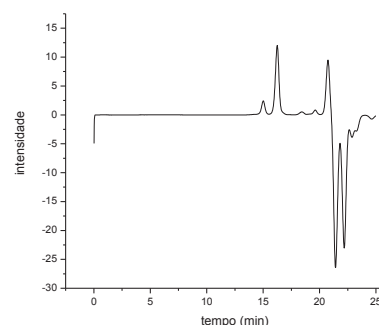


FIGURA 25d: OMT3



Pelas Figuras (25b, 25c e 25d) observa-se a presença de um número de constituintes diferenciados na amostra caracterizando a transesterificação quando comparado ao OMIP. Entre 15 e 16 minutos há a presença de constituintes que interagem com moléculas da fase móvel. Essas interações os tornam os primeiros constituintes a eluir da coluna.

A Tabela 4 apresenta valores, em termos de percentagem, da transesterificação com a utilização do dietilenoglicol.

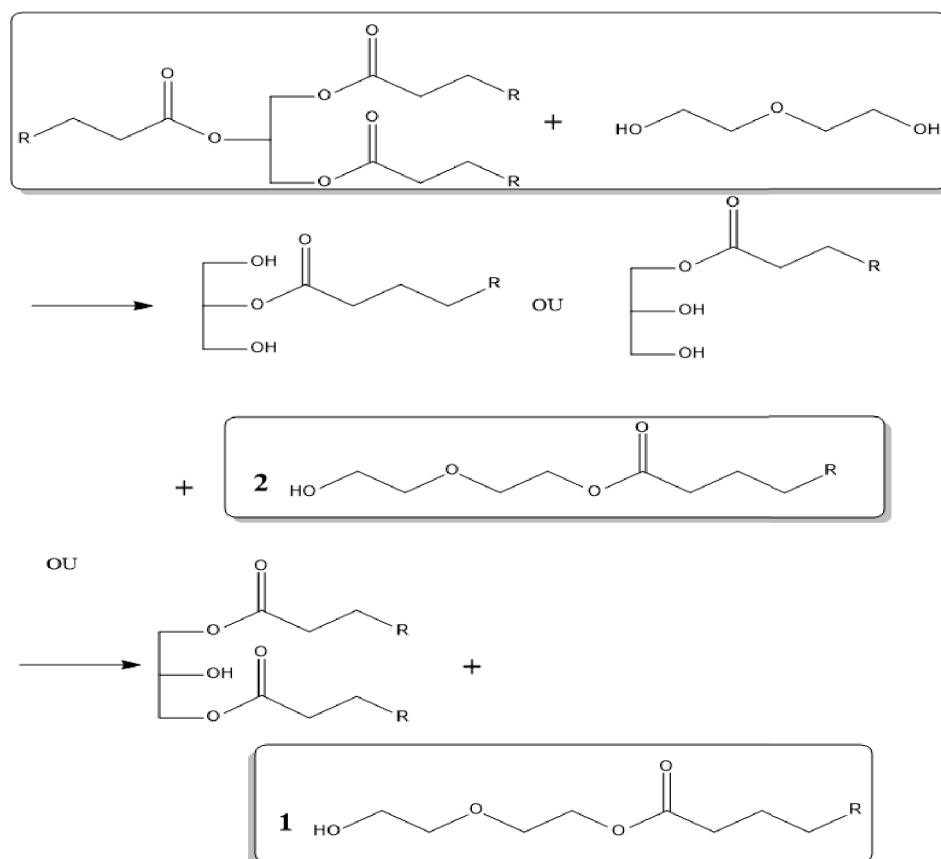
TABELA 4 – RESULTADOS DA ANÁLISE VIA CLAE PARA OS PRODUTOS DE TRANSESTERIFICAÇÃO COM ESTIMATIVA, EM %, PARA CADA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL.

Exp.	Álcool	T (°C)	Tempo (h)	CATALISADOR	TAG	PS	PP	PP+OS
1	3	150	2	0,1	90,19	---	9,81	9,81
2	3	175	4	0,3	7,57	32,32	60,12	92,43
3	3	200	6	0,5	3,42	36,79	59,79	96,58
4	6	150	4	0,5	4,55	20,12	75,33	95,45
5	6	175	6	0,1	17,11	26,93	55,96	82,89
6	6	200	2	0,3	0,72	19,11	80,16	99,28
7	9	150	6	0,3	9,28	20,01	70,71	90,72
8	9	175	2	0,5	0,83	12,23	86,94	99,17
9	9	200	4	0,1	2,28	15,54	82,19	97,72

TAG = triacilglicerol, PP = PRODUTO PRINCIPAL, PS = PRODUTO SECUNDÁRIO

A seguir (Figura 26) é apresentada uma proposta dos produtos principal e secundário originados a partir da transesterificação.

FIGURA 26 – PROPOSTA DE ESTRUTURA DOS PRODUTOS: PRINCIPAL (PP) E SECUNDÁRIO (PS) OBTIDOS VIA TRANSESTERIFICAÇÃO ENTRE ÓLEO DE MILHO E DEG.



De posse dos valores obtidos via CLAE, comparando-se os produtos das reações, é possível afirmar que as condições das reações 6, 8 e 9 são mais eficientes quando se refere ao consumo de TAGs na reação de transesterificação [94, 95].

Todos os produtos foram caracterizados, no entanto, para as reações posteriores foram utilizados os produtos das reações 2 e 3, visto que, tais caracterizações ocorreram em tempo posterior à obtenção destes produtos e optou-se aleatoriamente para seguir com as demais etapas [96].

6.2.5 Ensaio de reologia

O ensaio reológico determina a viscosidade dinâmica ou absoluta (μ) que representa a proporcionalidade entre a tensão de cisalhamento e o gradiente de velocidade.

Fluidos que apresentam uma relação linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação são designados newtonianos, o que representa a maioria dos fluidos, bem como os óleos vegetais e seus derivados. A reologia fornece dados de viscosidade em condições específicas de análise tais como: velocidade de cisalhamento, temperatura do fluido entre outros. As Figuras 27 (a e b) apresentam gráficos de reologia para o óleo de milho puro e para uma das condições estabelecidas para o óleo de milho transesterificado.

A viscosidade é uma propriedade variável nos óleos vegetais e dependente do grau de insaturação e tamanho das cadeias que os compõem. Podendo também ser influenciada pela presença de ramificações e posicionamento das insaturações. Quando comparados, os ácidos graxos saturados se encontram em uma conformação linear, flexível em estado de menor energia, possibilitando uma interação molecular mais efetiva, enquanto os ácidos graxos insaturados apresentam dobramentos na cadeia carbônica, para cada dupla ligação presente. A presença dessas insaturações na molécula torna as interações moleculares menos eficientes e a viscosidade se torna menor.

FIGURA 27 – CURVAS DA VARIAÇÃO DA VISCOSIDADE EM FUNÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO OBTIDAS PARA OMIP E OMT2.

FIGURA 27a: VISCOSIDADE OMIP

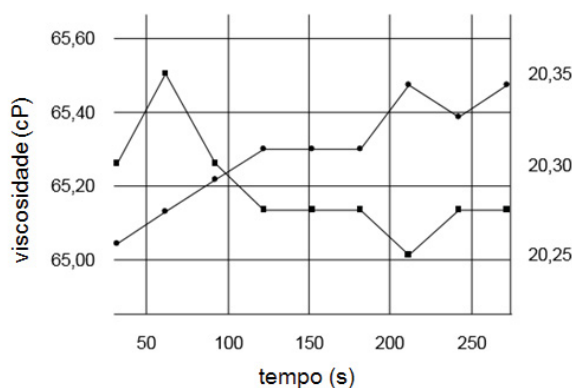
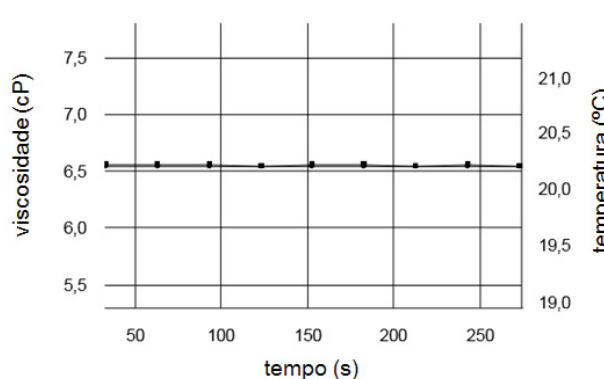


FIGURA 27b: VISCOSIDADE OMT2



Já a Tabela 5 traz dados de viscosidade para todas as condições experimentais.

TABELA 5 – RESULTADOS DA ANÁLISE REOLÓGICA OMIP E OMT (SPINDLE SC4- 18).

Amostra	OMIP	OMT1	OMT2	OMT3	OMT4	OMT5	OMT6	OMT7	OMT8	OMT9
---------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

μ (cP)	65	6,6	7,1	6,3	6,8	6,5	7,4	7,8	6,2	6,4
---------------	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

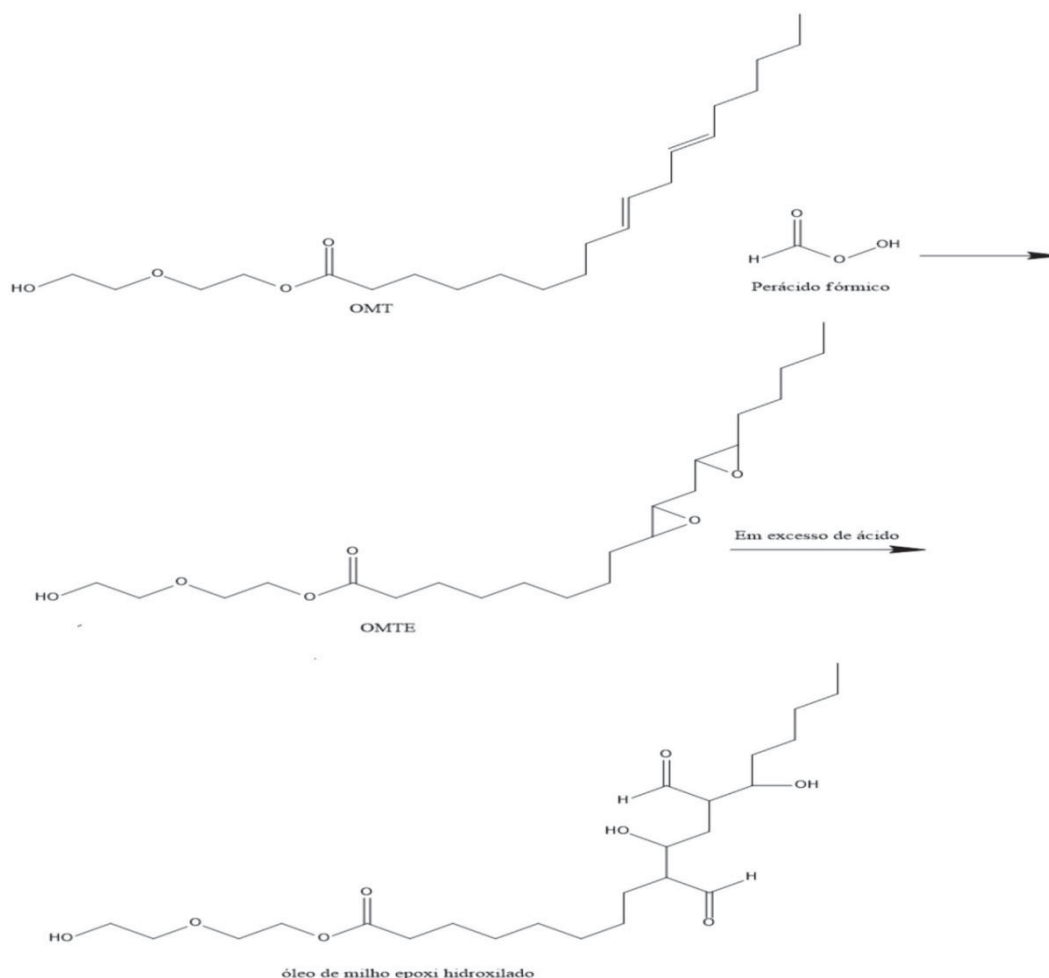
* Tempo 270s. Temperatura 20 °C. Desvio padrão médio das amostras OMT ± 0,3

Para os óleos vegetais *in natura*, a viscosidade é elevada por apresentarem cadeias de TAGs longas, pois ocorre o entrelaçamento destas cadeias, principalmente quando cisalhadas e decresce quando transesterificados devido à presença de monoacilglicerois, ou seja, presença de cadeias lineares que não entrelaçam ou não se atraem tão fortemente. Suas propriedades reológicas são dependentes de outros fatores tais como: temperatura, taxa de cisalhamento e tempo, além de estarem diretamente relacionadas à dimensão e à orientação das moléculas.

6.3 Síntese de poliois de óleo de milho transesterificados-epoxidados

A reação de epoxidação de óleos (Figura 28) tem como intuito a transformação das insaturações presentes no óleo, em hidroxilas, que poderão reagir com outras espécies [74].

FIGURA 28 - ESQUEMA DA REAÇÃO DE EPOXIDAÇÃO DO ÓLEO DE MILHO TRANSESTERIFICADO COM O PERÁCIDO FÓRMICO PARA OBTENÇÃO DO POLIOL.



6.3.1 Caracterização dos produtos transesterificados-epoxidados à base de óleo de milho

Os produtos transesterificados-epoxidados foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), ressonância magnética nuclear (RMN ^1H e ^{13}C), índice de acidez, calorimetria exploratória diferencial (DSC), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e reologia, cujos resultados estão apresentados a seguir.

6.3.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização realizada por espectroscopia na região do infravermelho para o óleo de milho transesterificado-epoxidado (OMITE) (Figura 29a) revelou a

presença de uma banda em torno de 3500 cm^{-1} , referente ao $\nu(\text{OH})$ para o éster epoxihidroxilado.

FIGURA 29 – ESPECTROS FTIR DOS PRODUTOS TRANSESTERIFICADOS. OMTE 1 (a); OMTE2 (b); OMTE3 (c)

Fig 29a – OMTE1

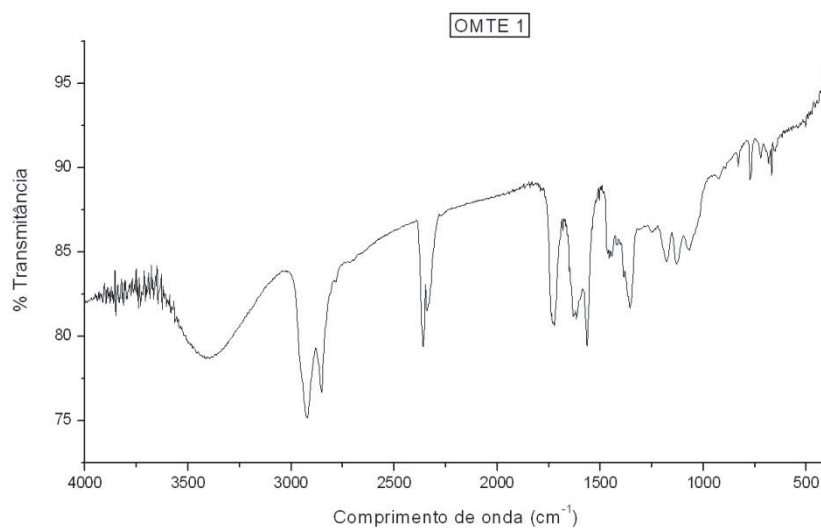


Fig 29b – OMTE2

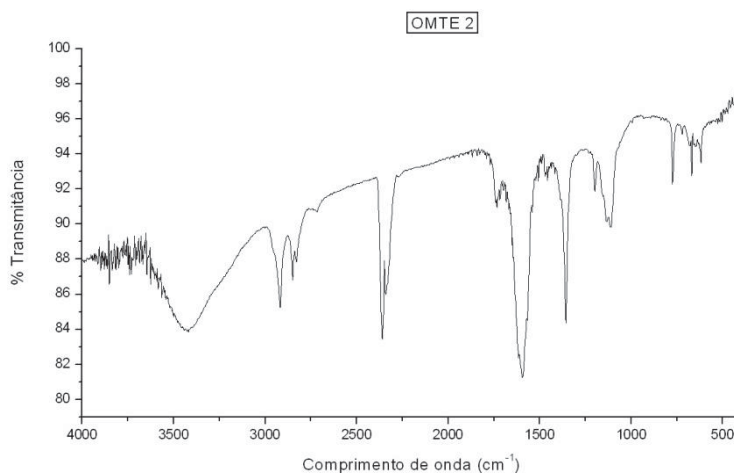
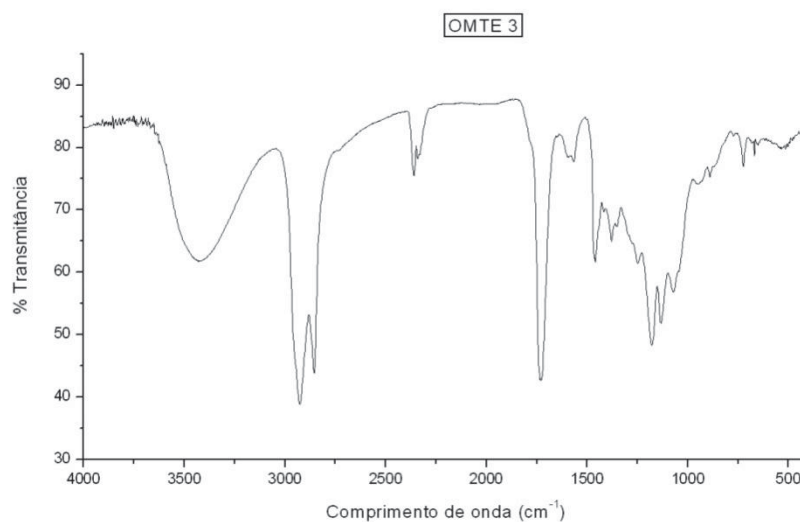


Fig 29c – OMTE3



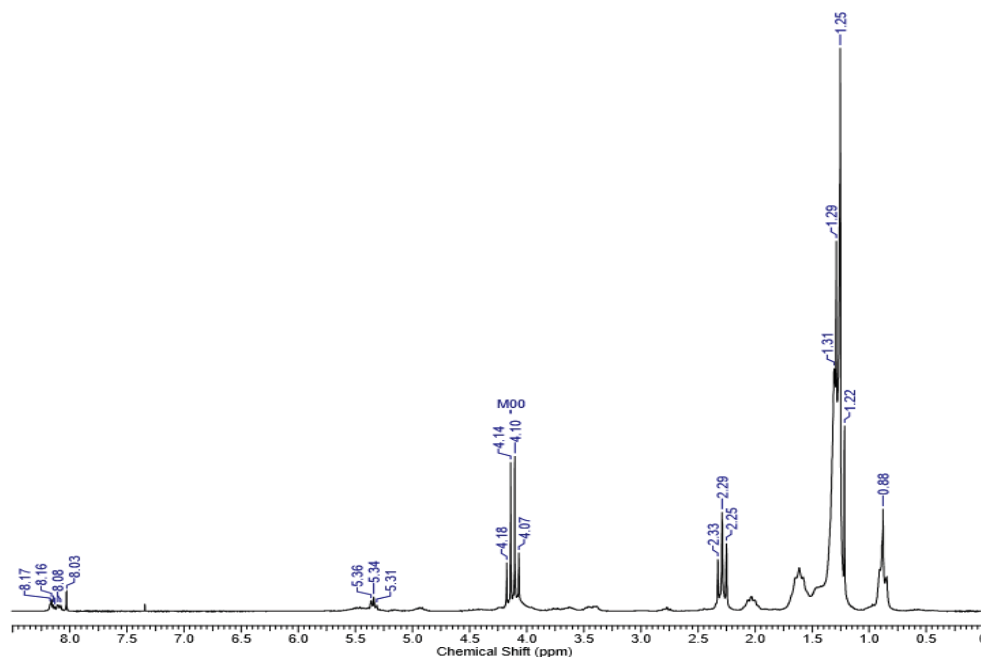
Verifica-se também, para as amostras de OMITE a deformação angular em 1367 cm^{-1} , deformação axial C-O em 1176 cm^{-1} e deformação axial de C-O-C em 1031 cm^{-1} . Foi observada a ausência da banda referente a C=C em 3000 cm^{-1} , além da presença das bandas e de deformação simétrica e assimétrica de CH_3 em 2929 e 2853 cm^{-1} , deformação simétrica em 849 cm^{-1} , e ainda a presença em menor intensidade da banda referente à olefinas *cis* em 714 cm^{-1} , evidencia que o produto hidroxilado foi formado e que ainda há insaturações remanescente da reação de epoxidação apesar das insaturações na região de 1600 cm^{-1} terem sido consumidas.

Foram realizadas análises para todos os produtos transesterificados-epoxidados, porém são apresentados os espectros apenas de alguns deles, conforme apresentados nas figuras acima, visto que apresentam perfis semelhantes. É possível ressaltar o fato de que para algumas condições experimentais houve uma intensificação da banda em 3500 cm^{-1} , característica das hidroxilas, o que sugere presença de cadeias modificadas, ou seja, poliois foram formados.

6.3.1.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C

Para o produto da reação de epoxidação do óleo de milho transesterificado (OMTE2) são apresentados os espectros de ^1H e ^{13}C nas Figuras 30 e 31. O deslocamento químico em torno de $\delta = 8$ ppm sugere ser dos hidrogênios vizinhos ao grupo formiato, e em $\delta = 2$ ppm, das hidroxilas formadas durante a reação de epoxidação, seguida da abertura do anel oxirano pelo excesso de ácido.

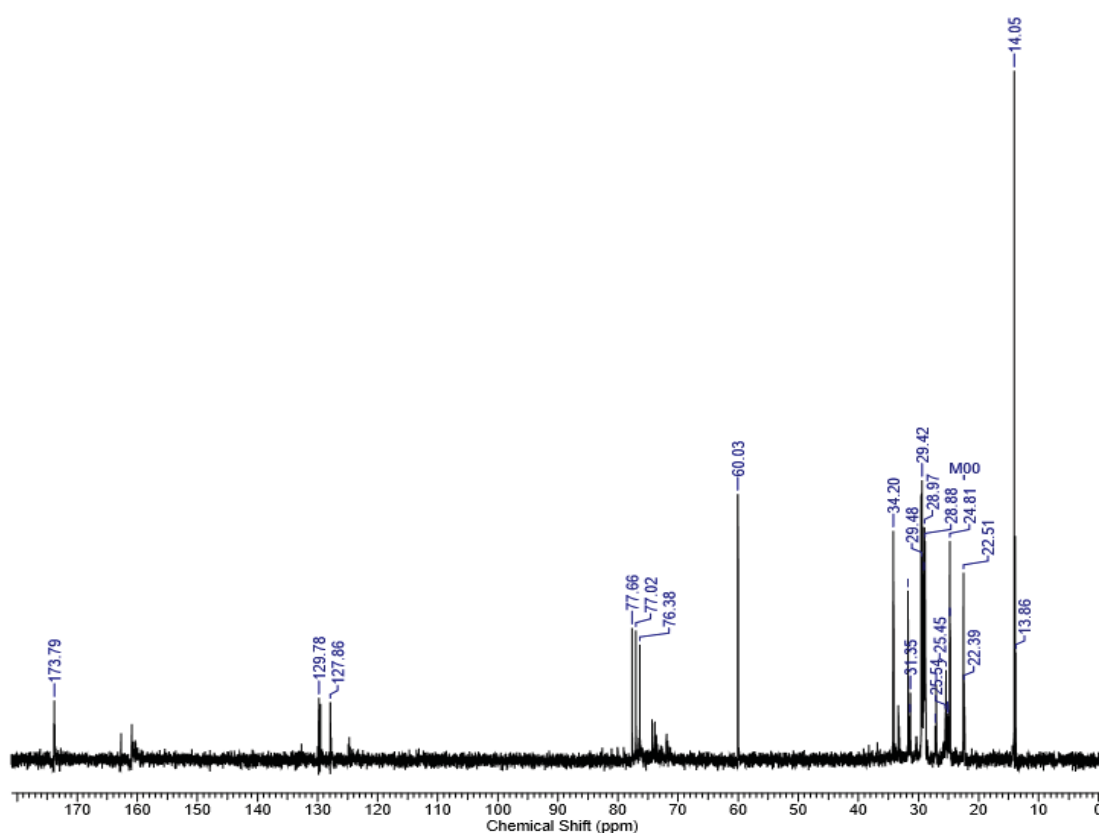
FIGURA 30 - ESPECTRO DE ^1H RMN DO PRODUTO TRANSESTERIFICADO-EPOXIDADO OMTE2.



O produto apresentou os deslocamentos químicos como segue: hidrogênios olefínicos e um hidrogênio metilênico do glicerol em $\delta = 5,34$ a $5,25$ ppm, hidrogênios metilênicos da fração glicerínica em $4,31$ a $4,14$ ppm, grupos metilênicos vizinhos a olefinas em $\delta = 2,03$ ppm, grupo metilênico vizinho a dois carbonos saturados em $\delta = 1,61$ ppm, grupos metilênicos vizinhos a carbonos saturados em $\delta = 1,28$ ppm, metilas terminais em $\delta = 0,94$ a $0,88$ ppm, hidrogênios ligados ao carbono de hidroxila em $\delta = 3,69$ a $3,41$ ppm além de hidrogênios pertencentes ao grupo formiato $8,16$ a $8,02$ ppm.

A partir do espectro de ^{13}C (Figura 31) é possível inferir deslocamentos químicos referentes às carboxilas do triglicerídeo além dos deslocamentos dos ésteres formados pela abertura do anel oxirano (em torno de $\delta = 162$ ppm, não assinalado). Corroborando com os resultados anteriores, no espectro de ^{13}C , são verificados deslocamentos químicos de carbonos das duplas ligações e o surgimento de um sinal em $\delta = 74,3$ e $73,6$ ppm típico de carbono secundário ligado a uma hidroxila da abertura do anel oxirano.

FIGURA 31 - ESPECTRO DE ^{13}C RMN DO PRODUTO TRANSESTERIFICADO-EPOXIDADO OMTE2.



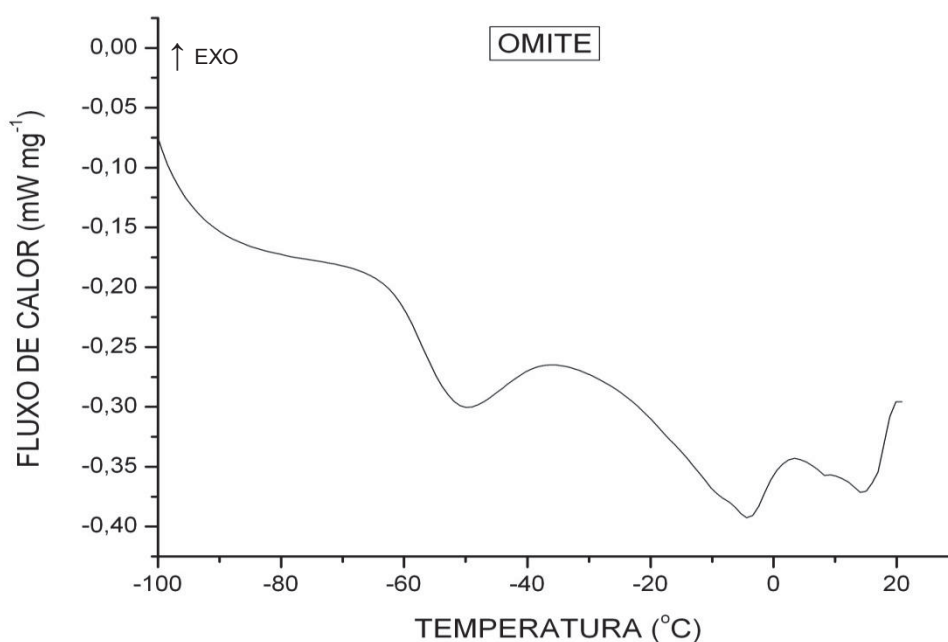
Além dos deslocamentos químicos assinalados acima, destacam-se: carbonos olefínicos em $\delta = 129,9$ a $127,8$ ppm, carbonos da fração glicérica $\delta = 68,7$ e $61,9$ ppm, grupos metilênicos vizinhos a carbonos saturados em $\delta = 29,5$ a $22,5$ ppm, carbonilas dos triglicerídeos em $\delta = 173,2$ ppm (carboxilas externas); e em $\delta = 172,8$ ppm (interna). Com estes resultados pode-se concluir que o polioli foi obtido, já que foi possível visualizar a presença de sinais que indicaram a formação de grupos hidroxila e formiato a partir da reação de epoxidação com abertura do anel oxirano *in situ*, confirmando os dados dos espectros de FTIR.

Comparando os espectros dos produtos transesterificados-epoxidados aos do óleo de milho puro e o óleo de milho transesterificado (OMT), pode ser sugerido que a reação de epoxidação tenha ocorrido, visto que houve a formação dos poliois de modo a atender o proposto.

6.3.1.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise do termograma obtido por DSC (Figura 32) do óleo de milho transesterificado-epoxidado (OMTE2) revela valores de fusão em $-4,3^{\circ}\text{C}$ e $-50,7^{\circ}\text{C}$ caracterizando que houve uma modificação quando comparado ao seu precursor (OMIT2).

FIGURA 32 – CURVA DE DSC OBTIDA PARA O OMTE2.



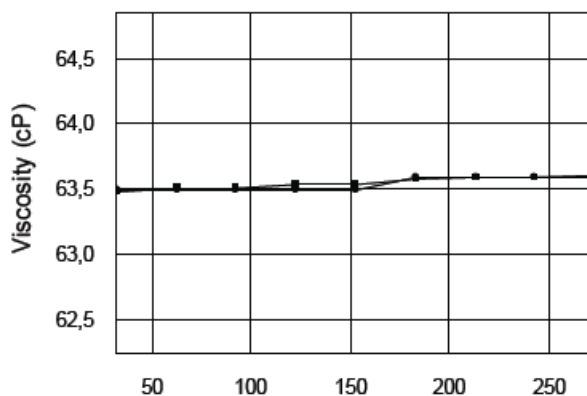
É possível dizer que houve deslocamento nos valores de fusão devido à formação dos poliois e isto ocorre porque há maior interação intermolecular entre cadeias, uma vez que houve a inserção de grupamentos hidroxila [75].

Possíveis semelhanças observadas neste termograma em relação ao OMIT devem-se ao fato de não ter ocorrido conversão de 100% no produto epoxidado.

6.3.1.4 Ensaio de reologia

Para o polioli OMTE2 (Figura 33) a viscosidade encontrada foi de $\mu = 63,6$ cP, maior que seu precursor OMT2 e semelhante ao óleo de milho puro. Pode-se correlacionar este resultado com a sua estrutura já que grande quantidade das insaturações foi consumida e foi agregado à estrutura dos grupos hidroxila e formiato, caracterizando, desta forma, um maior atrito intermolecular, maior interação intercadeias e, como consequência, aumento da viscosidade.

FIGURA 33 - CURVA DA VARIAÇÃO DA VISCOSIDADE EM FUNÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO OBTIDA PARA O OMTE2.



Demais amostras de OMTE apresentaram viscosidades semelhantes à descrita anteriormente, com valores médios de 63 cP.

6.3.1.5 Dosagem de grupos carboxila – índice de acidez

Os dados obtidos para o índice de acidez (Tabela 6) apontam que o éster possui maior quantidade de ácidos graxos livres do que o respectivo óleo de origem e os poliois sintetizados. Para fins de aplicação, é recomendável que o índice de acidez seja menor do que 1,0 para a obtenção de bons rendimentos na reação de formação do éster (transesterificação).

Para que haja um comparativo, são apresentados os índices de acidez do óleo precursor e dos óleos modificados.

TABELA 6 - VALORES DETERMINADOS PARA OS ÍNDICES DE ACIDEZ (IA).

Amostra	OMIP	OMT1	OMT2	OMT3	OMT4	OMT5	OMT6	OMT7	OMT8	OMT9
---------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

IA*	0,51	2,85	2,73	2,81	2,86	2,85	2,82	2,89	2,78	2,84
Amostra	OMIP	OMTE1	OMTE2	OMTE3	OMTE4	OMTE5	OMTE6	OMTE7	OMTE8	OMTE9
IA*	0,51	5,29	5,23	5,26	5,32	5,31	5,23	5,34	5,21	5,22

*ASTM D664, dados em mg KOH g⁻¹.

Um alto valor no índice de acidez dos produtos epoxidados quando comparado ao transesterificado pode ser decorrente da presença de ácido fórmico remanescente ou a formação de ácidos graxos livres provenientes da hidrólise do óleo ou do éster. Uma verificação mais apurada quanto aos valores destes índices de acidez é descrito com maior confiabilidade através dos cromatogramas da CG.

6.3.1.6 Cromatografia em fase gasosa (GC)

A partir do cromatograma do óleo de milho (Figura 34) é possível afirmar, através dos tempos de retenção a presença de ácidos graxos como ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2) e ácido linolênico (C18:3), que são os que compõem a maioria dos ácidos presentes em óleos vegetais, podendo-se observar os componentes triacilglicerois na faixa de 32 a 34 minutos.

FIGURA 34 - (a) CROMATOGRAMA OBTIDO VIA CG REFERENTE AO OMIP.

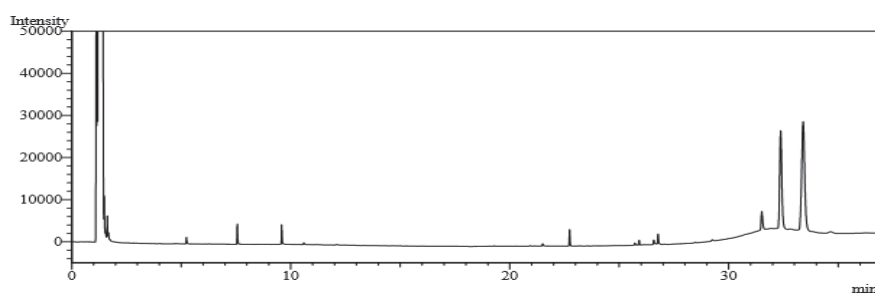
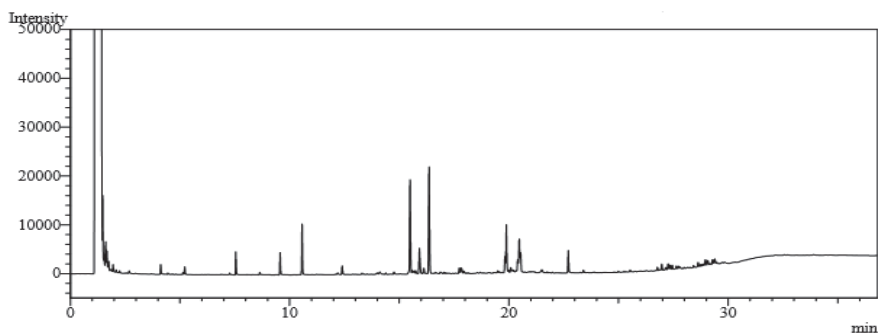


FIGURA 34b – CROMATOGRAMA OBTIDO VIA CG REFERENTE AO OMTE2



Para o cromatograma do polioli OMTE2 (Figura 34b) observa-se que parte do triacilglicerol foi hidrolisado durante a reação de transesterificação e, devido às modificações ocorridas no processo de epoxidação, os novos produtos eluíram no intervalo de tempo de 16 a 21 minutos. Os componentes triacilglicerois hidroxilados eluíram de 27 a 30 minutos. Comparando os cromatogramas do produto OMTE2 com seu óleo precursor, o que se observa é o deslocamento dos picos cromatográficos no polioli e a ausência dos ésteres insaturados indicando que as insaturações foram consumidas.

Uma avaliação do conjunto das análises realizadas aponta para a obtenção, com sucesso do polioli, à base do óleo de milho.

6.4 Homopolímeros e copolímeros

6.4.1 Síntese e caracterização do homopolímero PLAC e seus copolímeros

A síntese do poli(lactídeo) foi realizada através da abertura do anel de lactídeo por poliadição.

Esta síntese resulta em um homopolímero biodegradável, absorvível, renovável além de termoplástico. A polimerização do ácido láctico requer um monômero de alta pureza, uma vez que as impurezas interferem no curso da reação e reduz a qualidade do polímero.

O material obtido apresentou-se na forma de pó branco (Figura 35) e foi empregado nas reações de copolimerização com os óleos modificados.

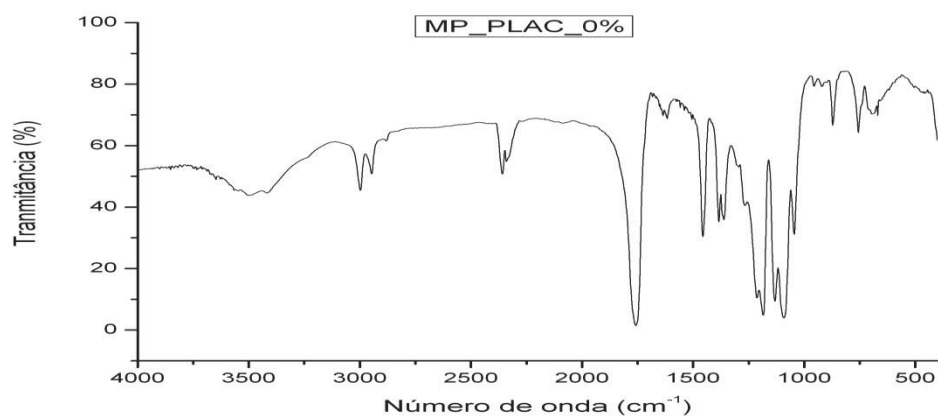
FIGURA 35 – ASPECTO DO MATERIAL OBTIDO ATRAVÉS DA POLIMERIZAÇÃO DO LACTÍDEO.



6.4.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 36 mostra os espectros FTIR do monômero lactídeo e do poli (lactídeo) obtido a partir da reação de polimerização. O espectro PLAC mostra as bandas em 2754 e 2766 cm^{-1} das vibrações simétricas e assimétricas de CH_2 e de CH_3 , respectivamente. É possível observar uma mudança de banda relacionada ao alongamento $\text{C}=\text{O}$ no monômero em 1727 e 1757 cm^{-1} no polímero. Bandas correspondentes às vibrações de flexão de CH_3 (assimétricas e simétricas) foram observadas em 1433 e 1511 cm^{-1} no espectro do polímero, assim como maiores picos de intensidade em comparação com aqueles do monômero encontrado em 1408 e 1476 cm^{-1} , além da banda com grande intensidade em 1750 cm^{-1} referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ característico de ésteres.

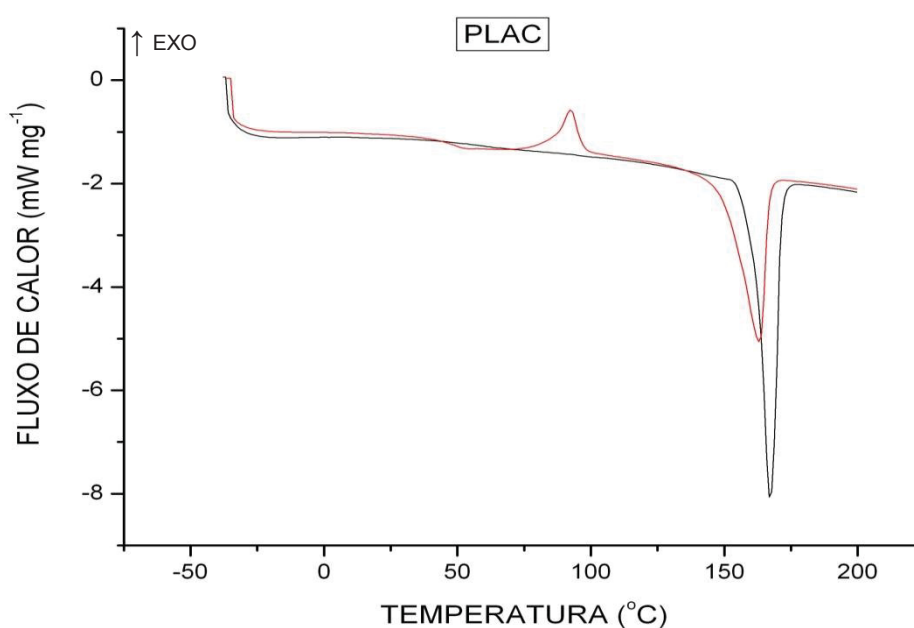
FIGURA 36 - ESPECTRO FTIR PARA O PLAC.



6.4.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

De acordo com a Figura 37 tem-se a temperatura de transição vítrea (T_g) do PLAC puro por volta de 51 °C, e a temperatura de fusão (T_m) de 165 °C, verificados no segundo aquecimento, além de uma cristalização em 85°C, verificada no segundo resfriamento. Observa-se que esta tem o valor bem acima da temperatura ambiente, apresentando este material, comportamento frágil em temperatura ambiente [6].

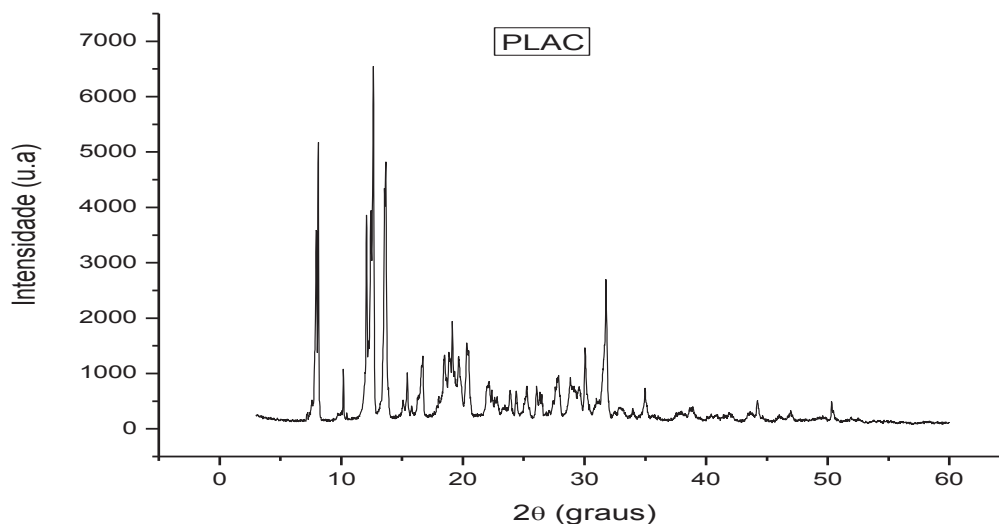
FIGURA 37 - CURVA DE DSC PARA O PLAC.



6.4.4 Difractometria de raios X (DRX)

Nas curvas resultantes da análise por DRX podem-se observar três picos majoritários de difração de raios X (Figura 38). Para o PLAC, um pico alargado em torno de 12,9° e, outros dois, nos ângulos 18,6° e 32,5°. Esses picos de difração são característicos da sua estrutura semicristalina caracterizada possivelmente pelo seu processo de polimerização [6]. São verificados ainda picos de cristalinidade em 11° e 32° referentes ao monômero lactídeo.

FIGURA 38 - DIFRATOGRAMA REFERENTE AOVPLAC.



6.5 Copolimerização entre PLAC e polióis

Reações de copolimerização entre os poliois obtidos e o poli(lactídeo) foram procedidas, totalizando 8 reações nas mais variadas condições reacionais. No entanto, verificou-se uma limitação de massa molar, ou seja, o copolímero não atingiu massa molar suficiente para ser utilizado nos processos de encapsulação. Com isto, optou-se em trabalhar em uma nova linha de estudo utilizando óleo de rícino e poli(caprolactona).

6.6 Síntese e caracterização do homopolímero PCL e seus copolímeros

6.6.1 Caracterização da poli(caprolactona)

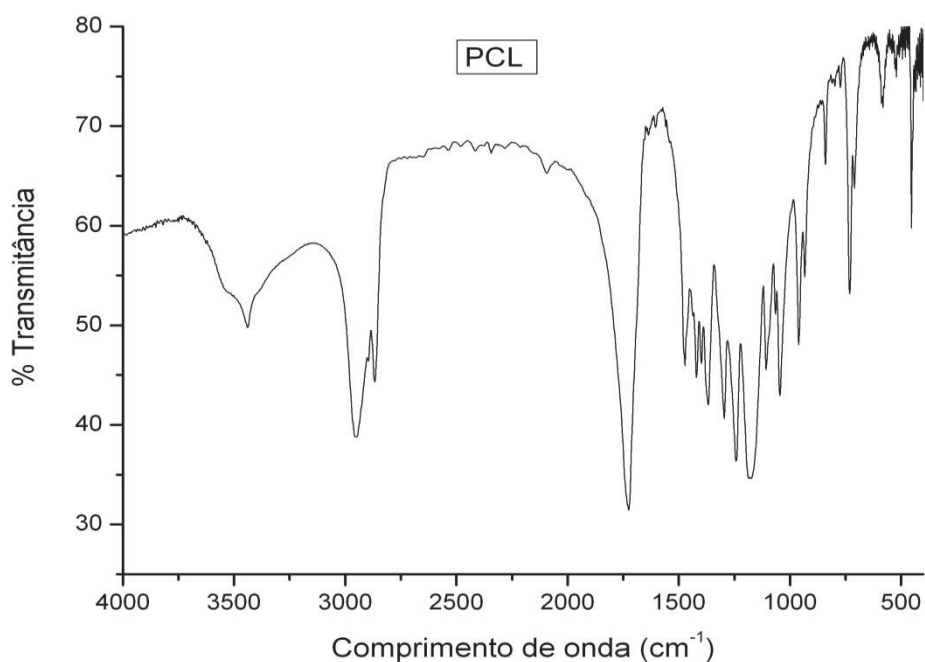
Para as reações de copolimerização com óleo de rícino, foi empregada a poli(caprolactona) e esta foi caracterizada com o intuito de comparativo em produtos obtidos a partir deste polímero.

6.6.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O espectro referente à poli(caprolactona) (Figura 39) apresenta estiramentos característicos assimétricos e simétricos de CH dos grupos metilênicos (-CH₂-) em 2950 e 2867 cm⁻¹ e do estiramento da carboxila de éster (-

C=O) em 1723 cm^{-1} . O estiramento da ligação C-O foi registrado em 1295 cm^{-1} , bem como o estiramento assimétrico da ligação COC em 1245 cm^{-1} . Uma banda de absorção foi observada em 3439 cm^{-1} referente às ligações (-OH), hidroxilas terminais, da PCL.

FIGURA 39 - ESPECTRO DE FTIR REFERENTE À POLI(CAPROLACTONA).

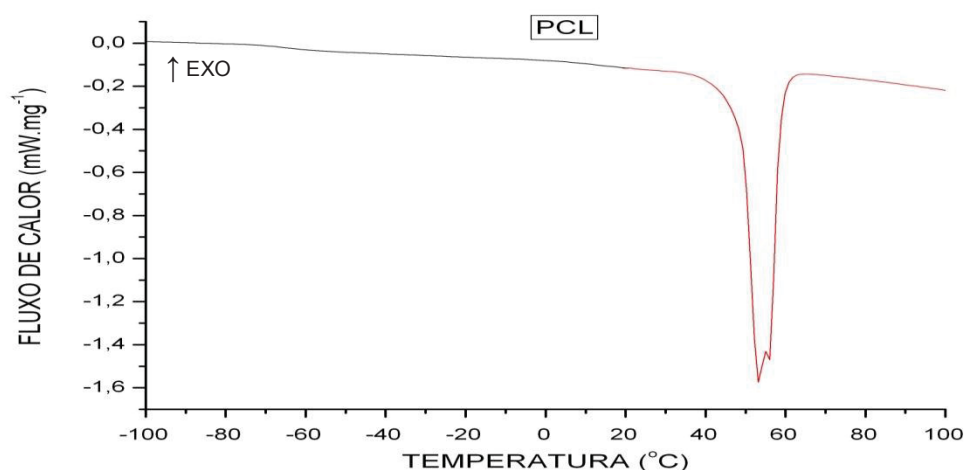


6.6.1.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Um teste calorimétrico preliminar foi realizado para determinar as temperaturas relevantes aos fenômenos de cristalização e fusão da PCL. A amostra foi aquecida, mantida em temperatura constante durante por um determinado tempo e depois resfriada.

Foi observada, no segundo aquecimento, temperatura de transição vítrea (T_g) em torno de -60°C e temperatura de fusão em torno de 60°C (Figura 40). A PCL também exibiu um pico exotérmico de cristalização (T_c) em torno de 28°C registrado durante o resfriamento. A amostra foi submetida a aquecimento e resfriamento sucessivamente por duas vezes.

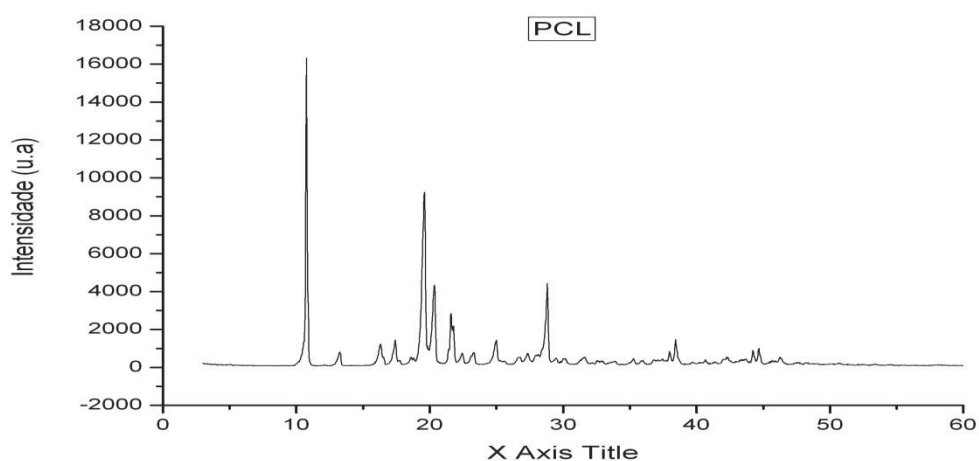
FIGURA 40 - CURVA DO DSC PARA POLÍMERO PCL.



6.6.1.3 Difractometria de raios X (DRX)

A análise do difratograma, para 2θ variando de 5 a 40° da PCL (Figura 41), apresenta um padrão de raios X com dois picos de reflexão a $2\theta = 11,4^\circ$ e $19,8^\circ$, com espaçamento basal de 0,412 e 0,325 nm, os quais correspondem aos planos do cristal PCL, na forma ortorrômbica. Portanto, pode-se dizer que a poli(caprolactona) comercial utilizada no presente projeto se apresenta como um polímero semicristalino.

FIGURA 41 - DIFRATOGRAMA REFERENTE À PCL UTILIZADA EM COPOLIMERIZAÇÃO COM ÓLEOS VEGETAIS.

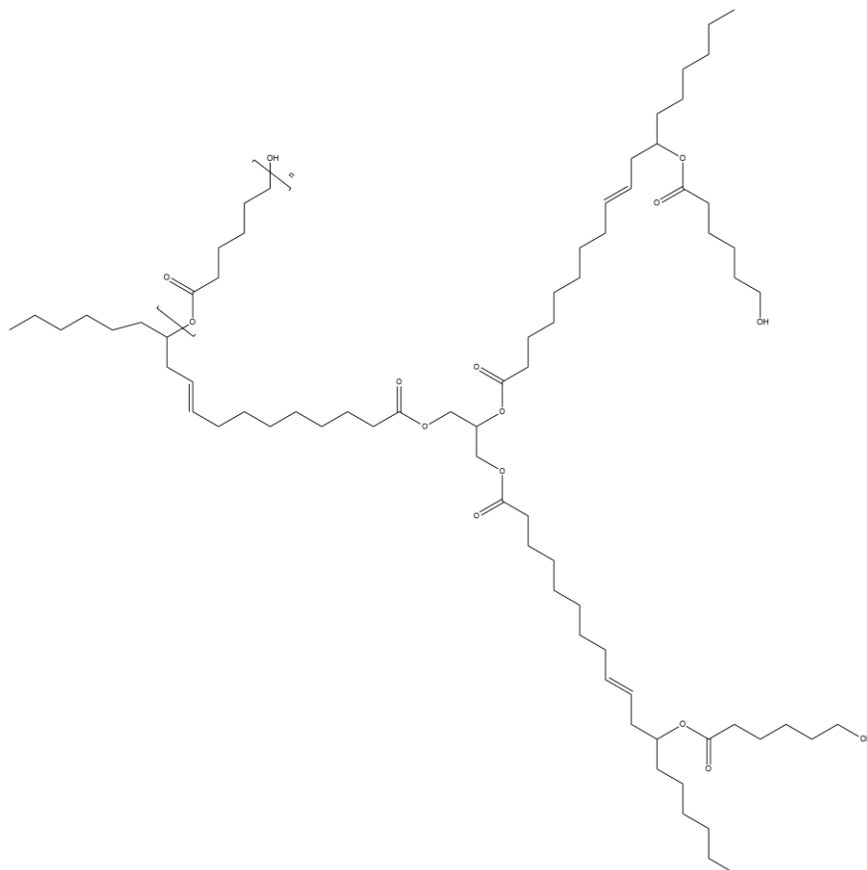


6.6.2 Caracterizações dos copolímeros à base de óleo de rícino

6.6.2.1 Copolímero poli(caprolactona) e óleo de rícino

A copolimerização proposta entre óleo de rícino e poli(caprolactona) gerou o produto PCLOR cuja estrutura é proposta na Figura 42.

FIGURA 42 – PROPOSTA DA ESTRUTURA DO COPOLÍMERO OBTIDO ATRAVÉS DA REAÇÃO ENTRE ÓLEO DE RÍCINO E POLI(CAPROLACTONA).



O material apresentou com as seguintes características: forma de pó ou partículas finas de coloração branca, sendo que a cor do óleo não afetou na cor do copolímero obtido conforme observado na Figura 43.

Foram preparados 4 copolímeros entre a poli(caprolactona) e o óleo de rícino (PCLOR), sendo que todos apresentaram o mesmo aspecto visual. Os copolímeros foram avaliados por GPC, ^1H RMN, DSC e DRX.

FIGURA 43 – ASPECTO DO COPOLÍMERO OBTIDO DA REAÇÃO ENTRE POLI(CAPROLACTONA) E ÓLEO DE RÍCINO PURO.



6.6.2.2 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

Os polímeros foram analisados por cromatografia líquida para determinação dos valores das massas molares. Os cromatogramas apresentaram uma curva com um único pico cujos resultados foram dispostos na Tabela 7.

TABELA 7 - RESULTADOS DA CROMATOGRAFIA DE PERMEÇÃO EM GEL PARA OS PRODUTOS CLOR (CL COM ÓLEO DE RÍCINO *IN NATURA*).

Reação	Proporção CL/OR	Mn (g.mol ⁻¹)	Rendimento mássico (% m/m)	Polidispersão
PCLOR 1	1:15	NO*		NO*
PCLOR 2	1:60	17.402	73,09	1,72
PCLOR 3	1:60	18.789	71,84	1,70
PCLOR 4	1:30	16.730	62,67	1,75

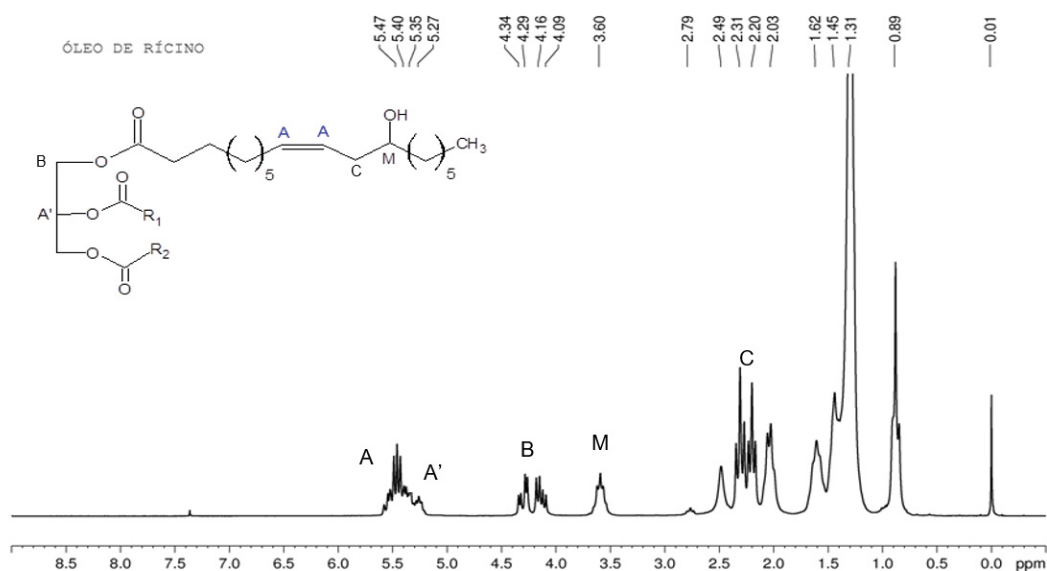
NO* - não observado

A partir da análise de GPC é possível afirmar que, dentre os produtos analisados, o PCLOR3 apresentou maior massa molar. Tomando como base que o óleo de rícino apresenta massa molar em torno de 1000 g.mol⁻¹ e que os produtos de reação apresentaram massas molares em torno de 18000 g.mol⁻¹ é possível afirmar, em princípio, que o processo de copolimerização tenha ocorrido.

6.6.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H

Primeiramente, o espectro do ^1H RMN do OR puro foi obtido (Figura 44). Foram destacados alguns sinais de pontos característicos do óleo. Em destaque, são dados os seguintes deslocamentos químicos: A) hidrogênios da instauração em $\delta = 5,52$ a $5,43$ ppm. B) Hidrogênio do carbono do grupo éster em $4,26$ ppm. C) Hidrogênios vizinhos ao grupo éter em $\delta = 3,77$ a $3,68$ ppm. D) Hidrogênios vizinhos à olefinas e carbono ligado à hidroxila $\delta = 2,37$ a $2,03$. M) Hidrogênio do carbono ligado à hidroxila em $\delta = 3,62$ a $3,58$ ppm.

FIGURA 44 - ESPECTRO DE ^1H RMN DO ÓLEO DE RÍCINO *IN NATURA*.



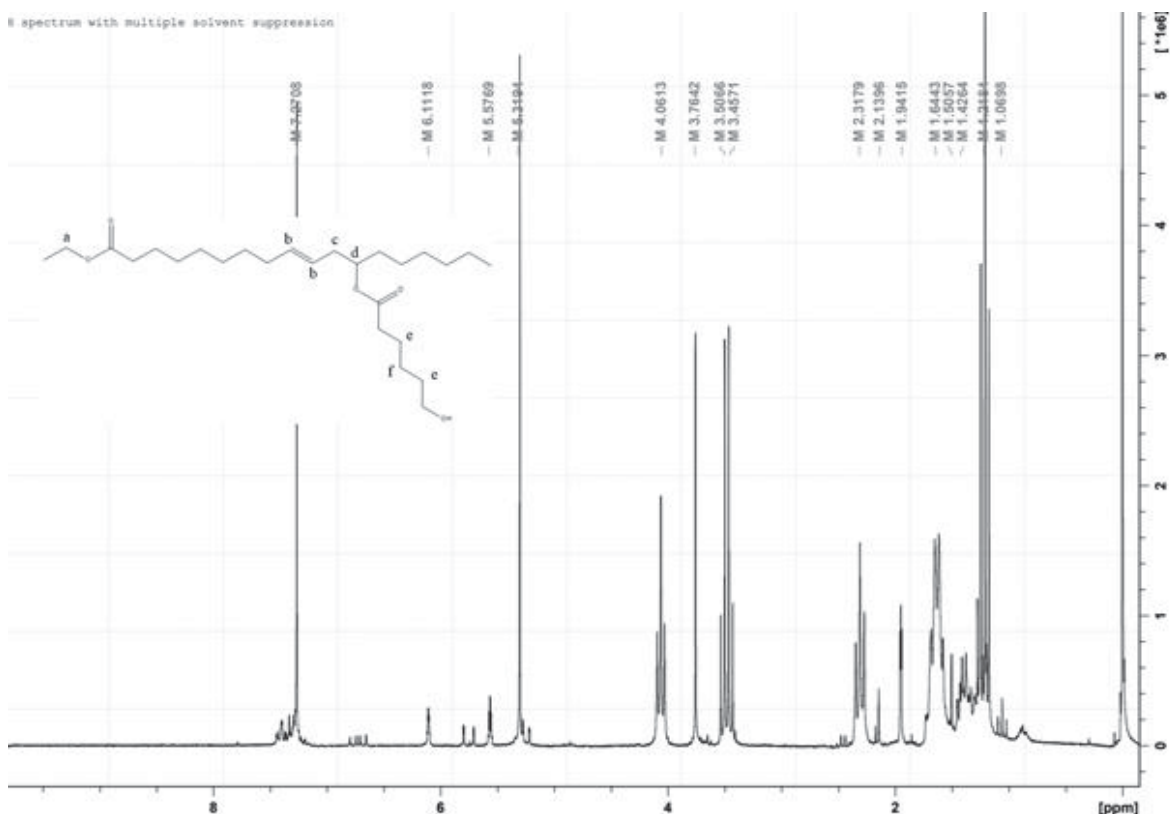
Posteriormente, foi analisado, por ressonância magnética nuclear, o copolímero com óleo puro para comparação e identificação das ligações entre o óleo e a poli(caprolactona).

Pode-se observar que no espectro, são encontrados sinais característicos da caprolactona e do óleo de rícino, ou seja, há a indicação da reação de polimerização por abertura do anel.

Dentre os sinais é possível identificar os seguintes: (a) em $4,26$ ppm existe um tripleto referente ao hidrogênio do carbono do grupo éster (OR). (b) $5,3$ ppm existe um conjunto de sinais referentes aos H da instauração (OR). (c) $2,25$ ppm referente ao H do carbono sp^2 11 da cadeia do OR. Em (d) $3,75$ ppm um sinal referente ao hidrogênio vizinho à hidroxila (OR). Em (e) $1,5$ e (f) $1,7$ ppm dois

sinais referentes aos hidrogênios do carbono CH₂ da cadeia repetitiva do polímero. Acima de 6,0 ppm estão sinais de impurezas provenientes do catalisador, ainda presente no meio reacional.

FIGURA 45 - ESPECTRO DE ¹H RMN DO PRODUTO PCLOR 2



Na figura 45, pode-se observar que o número de sinais do produto entre poli(caprolactona) e óleo de rícino puro utilizando o octanoato de estanho como catalisador aumentou significativamente quando comparado aos produtos com óleo de rícino, sugerindo ligação química com a caprolactona.

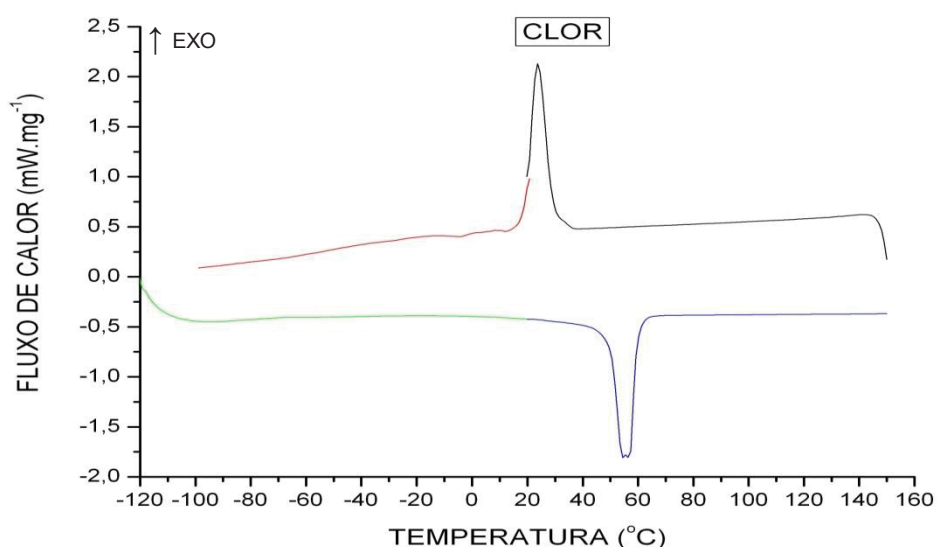
É possível observar sinais da caprolactona em 4,01ppm, em 2,05 ppm e um conjunto de sinais entre 1,3 ppm e 1,8 ppm tendo esses a potencialidade de serem os mesmos da PCL pura.

Ainda, na região de 5,57 ppm alguns sinais que podem ser relacionados aos hidrogênios da instauração do óleo de rícino.

6.6.2.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Foram conduzidas as análises para os produtos PCLOR 2, 3 e 4. O termograma obtido por DSC está apresentado na Figura 46 e demais resultados dispostos na Tabela 8.

FIGURA 46 - CURVA DO DSC PARA COPOLÍMERO PCLOR2.



Comparativamente ao óleo de partida e ao polímero empregado, o copolímero apresenta comportamento térmico diferente. Houve alteração nas temperaturas de transição vítrea e fusão visto que, ao se ligarem quimicamente, o óleo de rícino e a PCL, ocorre um aumento de massa molar e como consequência diminuição das temperaturas de transição vítrea e de fusão e de certa forma uma menor compactação de cadeias.

A seguir, são apresentados na Tabela 8, valores comparativos entre os eventos térmicos observados a partir da análise de DSC dos materiais de partida e os copolímeros obtidos.

TABELA 8 – ANÁLISE DE DSC PARA COPOLÍMEROS E ÓLEO DE RÍCINO.

Reação	T_g (°C)	T_c (°C)	T_m (°C)
OR – puro	-	-12	-13
PCL	-40	59	60
PCLOR 2	-63	*	57
PCLOR 3	-63	23	48
PCLOR 4	-64	*	50

*valores não detectados na curva

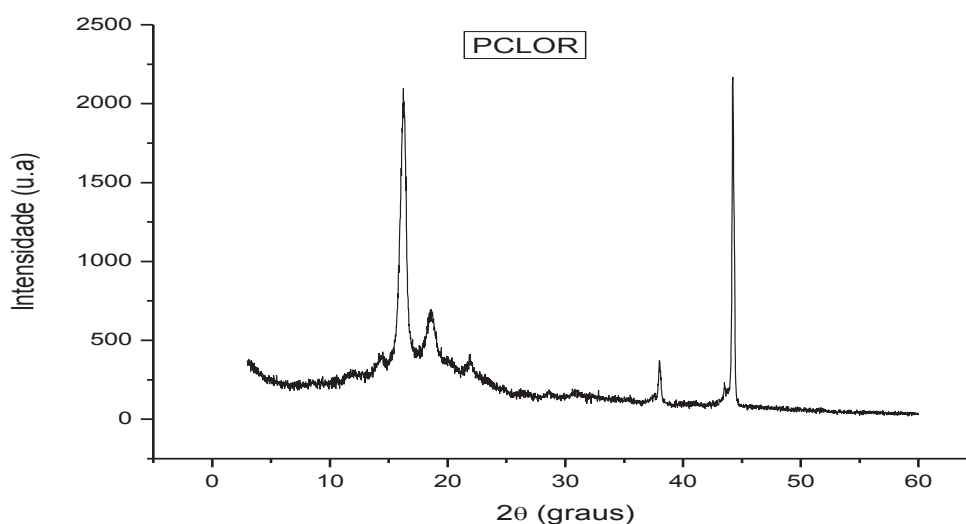
Desta forma, através desta análise, verifica-se que o produto copolimerizado apresenta temperaturas de transição vítrea tendendo à faixa da

PCL, porém com valores distintos. O comportamento térmico diferenciado com relação aos materiais de partida corrobora com as demais análises de que houve modificação.

6.6.2.5 Difratometria de raios X (DRX)

A análise do difratograma, para 2θ variando de 2 a 60° referente ao copolímero PCLOR (Figura 47), apresenta um padrão de raios X com cinco picos de reflexão a $2\theta = 16,1^\circ$; $19,3^\circ$; $21,4^\circ$; $37,3^\circ$ e 44° . Verifica-se uma diminuição da intensidade em $21,4^\circ$, ausência em $23,8^\circ$ característicos da PCL. No entanto, devido à ligação química ocorrida entre a PCL com o óleo de rícino, houve aumento de massa molar, reordenação de cadeias e modificação da cristalinidade do material gerando novos picos visualizados no difratograma conforme descritos.

FIGURA 47 - DIFRATOGRAMA REFERENTE AO COPOLÍMERO PCLOR2.



Assim, frente à PCL, o copolímero apresenta picos de cristalinidade em 15° , 18° , 38° e 43° caracterizando um material diferenciado dos reagentes de partida.

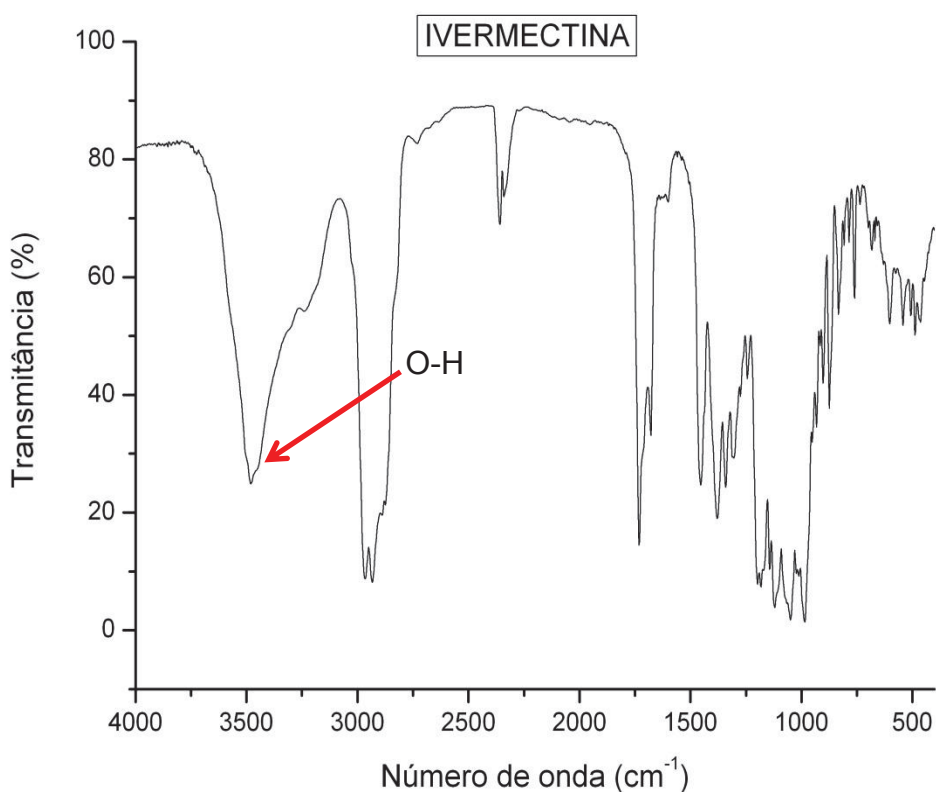
6.7 Caracterização dos princípios ativos aplicados na encapsulação

6.7.1 Ivermectina

6.7.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Conforme a Figura 48, o espectro da ivermectina apresenta as seguintes bandas: em 3500 cm^{-1} referente à deformação axial de O-H; vibrações em 2964 e 2937 cm^{-1} característicos de CH e deformação axial de CH_2 em 1460 cm^{-1} , além da absorção de ésteres em 1750 cm^{-1} característico das lactonas. Verificou-se a absorção característica de éteres alifáticos, sendo devido à deformação axial assimétrica de C-O-C em 1250 cm^{-1} , duas bandas de deformação angular simétrica fora do plano de $=\text{C-H}$ de alqueno, em 950 e 929 cm^{-1} além das bantas e m 1400 cm^{-1} de CH_2 .

FIGURA 48 - ESPECTRO DE FTIR PARA A IVERMECTINA.

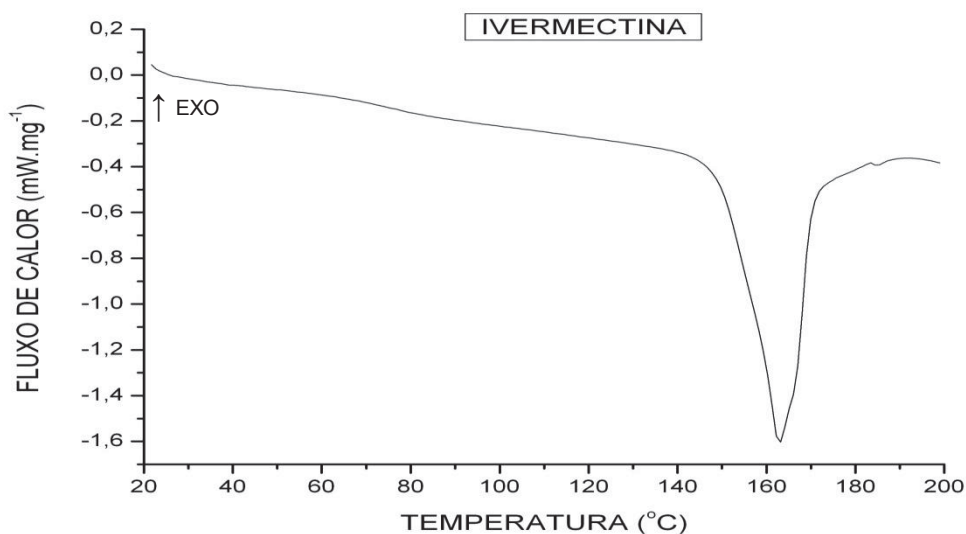


6.7.1.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Através da curva de DSC, obtida para o segundo aquecimento, pode-se evidenciar um pico endotérmico na faixa de temperatura entre 160°C e 170°C característico do processo de fusão do fármaco (Figura 49). De acordo com o Merck Index (1999) a faixa de fusão da ivermectina é de 155-157°C.

A ivermectina possui em sua rede cristalina a presença de formamida e etanol, solventes utilizados para purificação/recristalização da mistura de ivermectinas produzidas pela biossíntese dos microrganismos. Porém, pode-se afirmar que a análise por DSC é capaz de eliminar os solventes residuais totais presentes na amostra caso ainda existam. Cabe ressaltar que a amostra foi utilizada como recebida, dita pura.

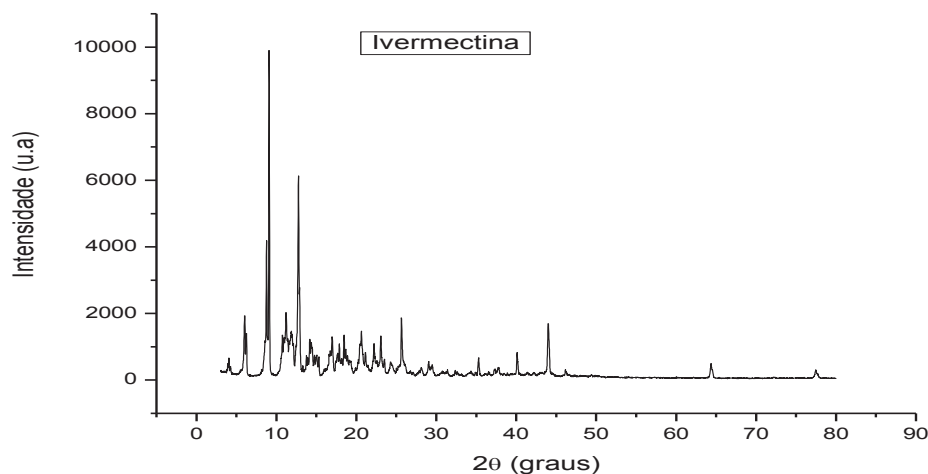
FIGURA 49 - CURVA DSC PARA A IVERMECTINA.



6.7.1.3 Difratomia de raios X (DRX)

Neste ensaio foi estabelecido o padrão de difração da ivermectina em fase sólida revelando a presença de uma série de picos, podendo ser destacado um pico distinto a 2θ em torno de 9°, além de outros secundários de menor intensidade em 9°, 12°, 13°, 13,5°, 18°, 19° e 27° (Figura 50), evidenciando o comportamento tipicamente cristalino do fármaco.

FIGURA 50 - DIFRATOGRAMA REFERENTE À IVERMECTINA.

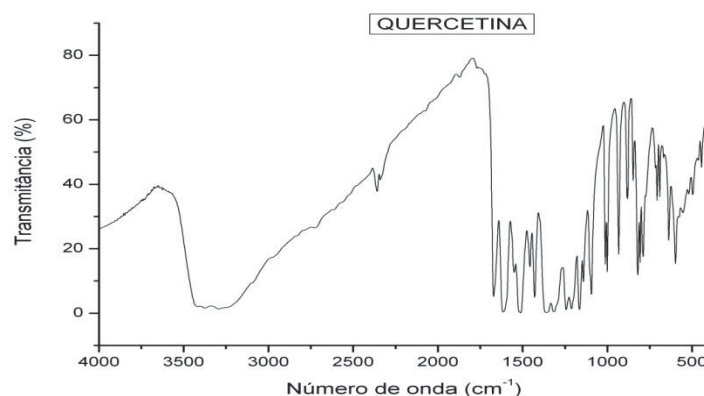


6.7.2 Quercetina

6.7.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A partir do espectro de FTIR da quercetina (Figura 51), observam-se bandas tais como: banda ampla entre 3446 e 3257 cm^{-1} característica das hidroxilas fenólicas presentes na estrutura, absorções em 2978 , 2933 e 2877 cm^{-1} referente aos C-H alifáticos, além de estiramentos em 1633 e 1604 cm^{-1} característicos de C=C conjugados, 1513 e 1477 cm^{-1} de C=C em aromáticos, 1197 cm^{-1} referente a C-O de éter aromático e a banda com absorção em 1045 cm^{-1} característico de C-O de éter.

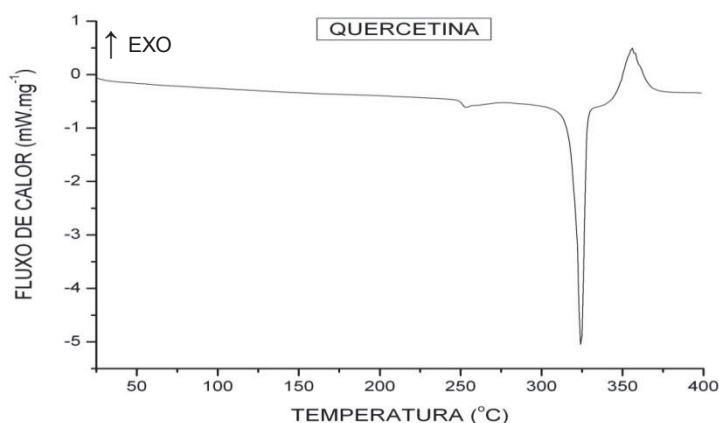
FIGURA 51 - ESPECTRO DE FTIR PARA A QUERCETINA.



6.7.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise térmica da quercetina, demonstra através de sua curva de DSC (Figura 52), avaliada em segundo aquecimento, que este flavonoide apresenta uma fusão em 325°C conforme literatura [54], além de um evento endotérmico em 250°C não atribuído à sua estrutura, ou devido a possível presença de impurezas.

FIGURA 52- CURVA DSC PARA A QUERCETINA.

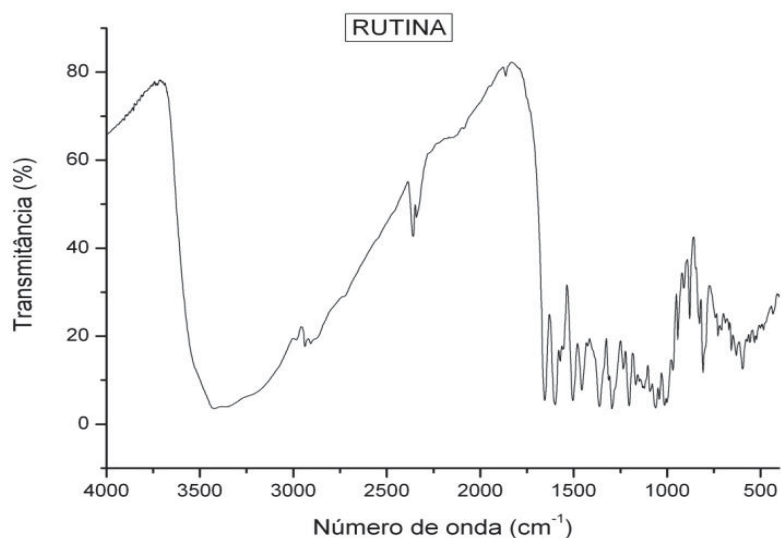


6.7.3 Rutina

6.7.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Análise do espectro de FTIR da rutina (Figura 53) indica a presença de diferentes estiramentos tais como: absorção em 3500 cm⁻¹ característico do grupamento OH de álcool e fenol observados na estrutura, estiramento em 1700 cm⁻¹ referente às carbonilas C=O, além dos convencionais a esta estrutura, 1600 cm⁻¹ de C=C e em 1000 cm⁻¹ de C-O e éter.

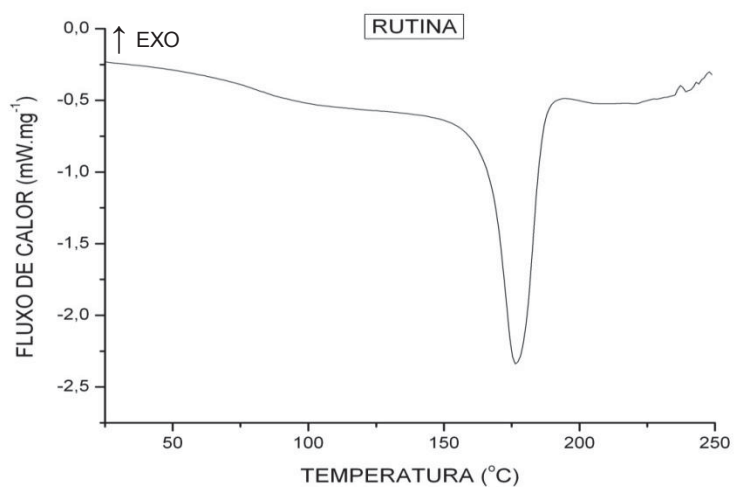
FIGURA 53 - ESPECTRO DE FTIR PARA A RUTINA.



6.7.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O ativo rutina também foi submetido à análise térmica por DSC (Figura 54), sendo que a amostra foi submetida a aquecimento e resfriamento por duas vezes, e o resultado do segundo aquecimento demonstra que o material funde a 175°C conforme preconizado pela literatura [55].

FIGURA 54 - CURVA DSC PARA A RUTINA.



6.8 Caracterização das micropartículas contendo os ativos: ivermectina, quercetina e rutina.

Todas as micropartículas contendo os ativos: ivermectina, quercetina e rutina foram caracterizados por FTIR e DSC e apenas as contendo ivermectina foram caracterizadas por MEV. As micropartículas geradas através da técnica de encapsulação por emulsão simples com evaporação do solvente apresentam as seguintes formulações conforme apresentadas na Tabela 9.

TABELA 9 – FORMULAÇÕES, EM PORCENTAGEM, DOS ATIVOS: IVERMECTINA, QUERCETINA E RUTINA ENCAPSULADOS NOS POLÍMEROS PCLOR, PCL E PLAC.

MP	IVERMECTINA (%)		QUERCETINA (%)		RUTINA (%)		
PCLOR	0%	5%	10%	-	-	-	-
PCL	0%	5%	10%	5%	10%	5%	10%
PLAC	0%	5%	10%	5%	10%	5%	10%

6.8.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O espectro das micropartículas de PCLOR com e sem os princípios ativos (Figura 55) mostrou bandas características da composição química do copolímero, como: estiramento em 3500 cm^{-1} correspondente às hidroxilas, deformação axial de C-H em 2985 cm^{-1} , deformação axial simétrica de ésteres alifáticos (C=O) saturados em 1739 cm^{-1} , absorção em 1400 cm^{-1} característico de C=C e deformação axial simétrica correspondente ao grupamento C-O-C de ésteres saturados entre 1200 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} [98, 99].

O espectro das micropartículas de PCL com e sem os princípios ativos (Figura 56) mostrou bandas características da composição química do polímero, como: banda pouco pronunciada em 3500 cm^{-1} correspondente às hidroxilas terminais do polímero, deformação axial de C-H em 3000 cm^{-1} , deformação axial simétrica de ésteres alifáticos (C=O) saturados em 1750 cm^{-1} , absorção em 1400 cm^{-1} característico de C=C e deformação axial simétrica correspondente ao grupamento C-O-C de ésteres saturados entre 1200 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} .

FIGURA 55 - ESPECTROS DE FTIR PARA AS MICROPARTÍCULAS DE PCLOR vazias (55a) e PCLOR CONTENDO O ATIVO IVERMECTINA (55b).

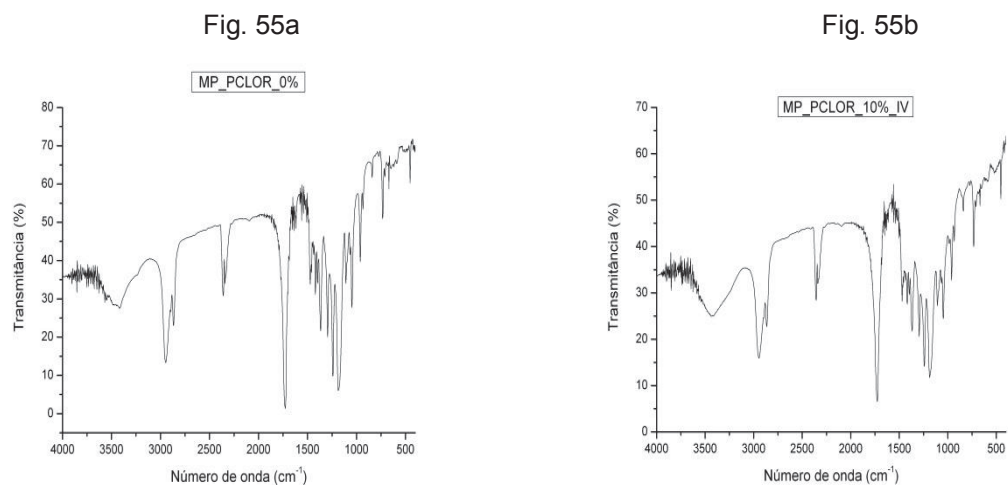
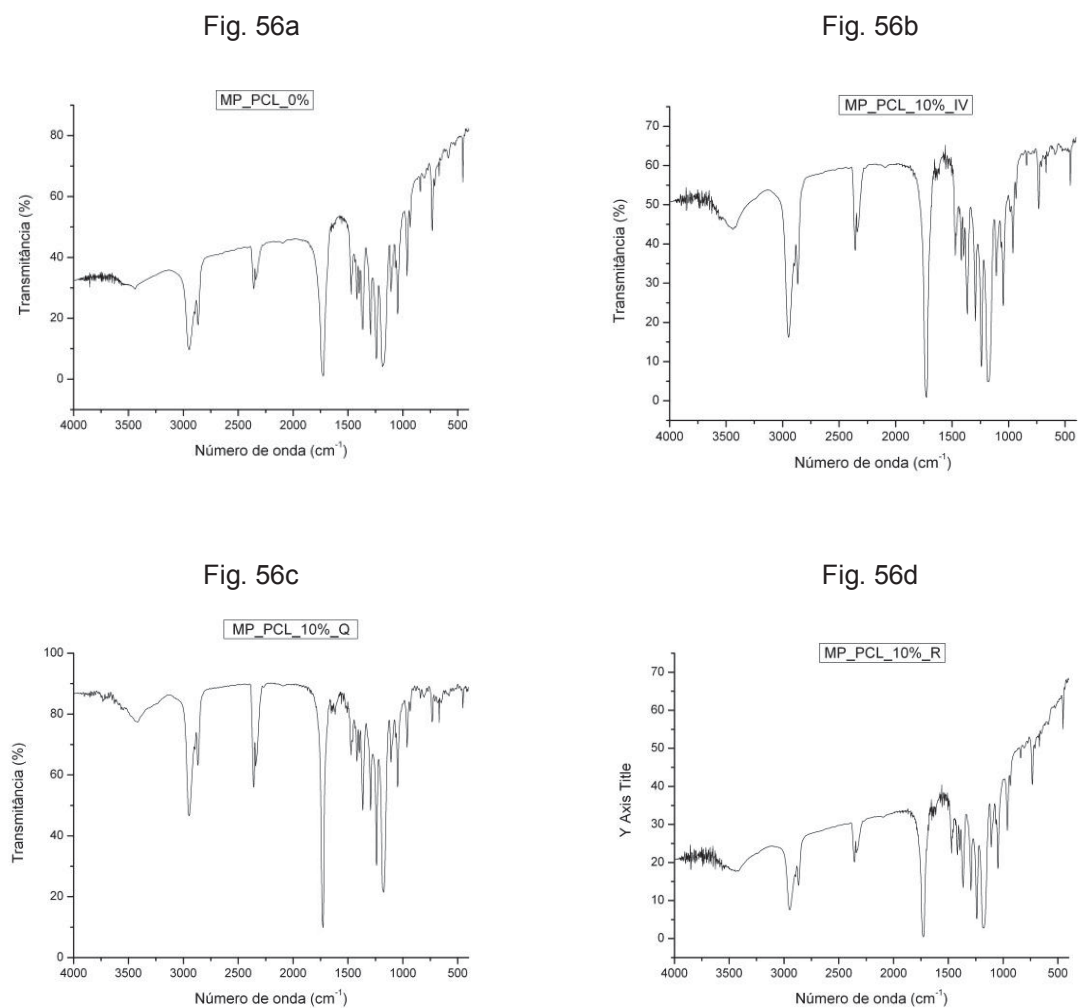


FIGURA 56 - ESPECTROS DE FTIR PARA AS MICROPARTÍCULAS DE PCL vazias (56a) e PCL CONTENDO OS ATIVOS: IVERMECTINA (56b), QUERCETINA (56c) E RUTINA (56d).



O espectro das micropartículas de PLAC com e sem os princípios ativos (Figura 57) mostrou bandas características da composição química do polímero, como: banda pouco pronunciada em 3500 cm^{-1} correspondente às hidroxilas terminais do polímero, deformação axial de C-H sp^2 e sp^3 entre 2900 cm^{-1} e 3000 cm^{-1} , deformação axial simétrica de ésteres alifáticos (C=O) saturados em 1750 cm^{-1} , absorção em 1400 cm^{-1} característico de C=C e deformação axial simétrica correspondente ao grupamento C-O-C de ésteres saturados entre 1200 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} .

FIGURA 57 - ESPECTROS DE FTIR PARA AS MICROPARTÍCULAS DE PLAC vazias (57a) e PLAC CONTENDO OS ATIVOS: IVERMECTINA (57b), QUERCETINA (57c) E RUTINA (57d).

Fig. 57a

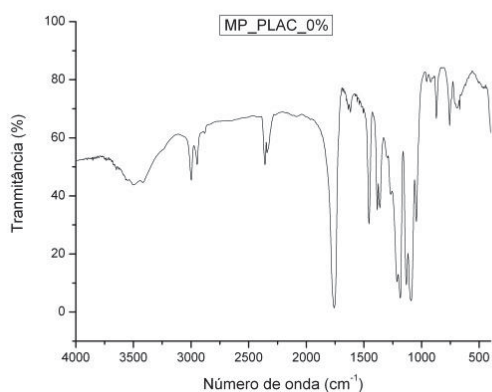


Fig. 57b

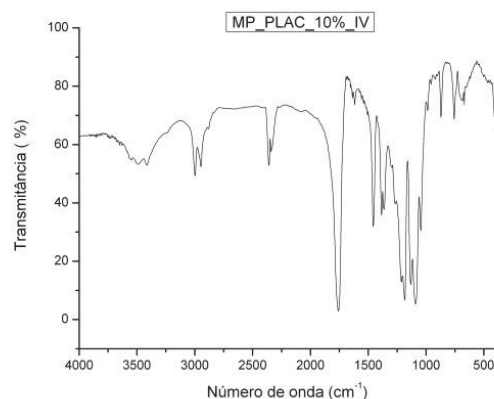


Fig. 57c

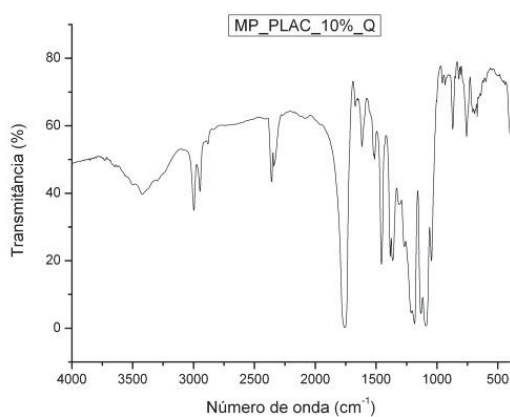
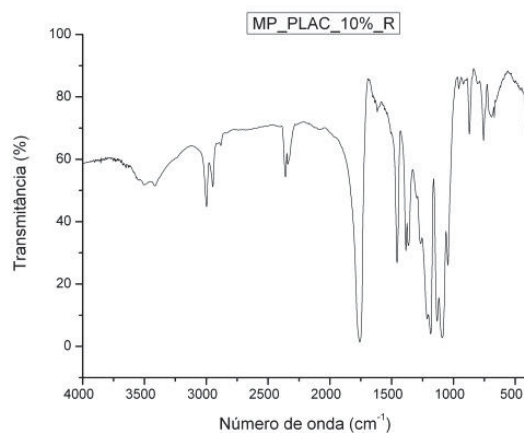


Fig. 57d



De acordo com os espectros apresentados, é possível dizer que a estrutura química dos polímeros, na forma de micropartículas, não foi alterada, porém a presença dos ativos não pode ser bem avaliada por esta técnica.

6.8.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises térmicas por DSC para as micropartículas contendo ivermectina (10%) apontam que para, as partículas poliméricas de PLAC (Tabela 10) é possível verificar fusões em 160°C e em 165°C referentes à ivermectina e ao PLAC respectivamente, porém com valores numéricos deslocados quando os materiais são comparados separadamente por DSC. Verifica-se, para as micropartículas de PCL contendo ivermectina, um único evento endotérmico intenso em 52°C, caracterizando uma fusão que, comparativamente a seus precursores ocorrem na mesma faixa de temperatura.

Por fim, corroborando com a análise por DSC para o copolímero PCLOR, verificam-se, nas micropartículas, valores referentes à transição vítrea, verificada também na PCL e fusões em 110°C e 145°C referentes ao copolímero e à ivermectina.

TABELA 10 – TEMPERATURAS DE TRANSIÇÃO VÍTREA, FUSÃO E CRISTALIZAÇÃO OBTIDAS VIA ANÁLISE TÉRMICA PARA O ATIVO IVERECTINA INCAPSULADA EM PLAC, PCL E PCLOR.

	PCL	PLAC	PCL IV	PLAC IV	PCLOR IV
T_g (°C)	- 40	51	-	51	-63
T_m (°C)	60	165	52	160	147
T_c (°C)	59	-	-	-	-

As análises térmicas realizadas por DSC para as micropartículas contendo quercetina e rutina (10%) encapsuladas em PLAC (Tabela 11) demonstram que é possível verificar fusões em 120°C, 160°C e em 350°C possivelmente ao polímero, quercetina e à rutina respectivamente. As temperaturas de transição vítrea ocorrem na faixa de 48°C a 50°C e a cristalização em torno dos 98°C.

Para as micropartículas de PCL contendo quercetina e rutina (10%), uma temperatura de transição vítrea bem característica em torno dos -40°C, com fusão

em 50°C, valor este deslocado em relação ao polímero puro e temperaturas de cristalização em 45°C e 22°C para micropartículas contendo quercetina e rutina respectivamente.

TABELA 11 – TEMPERATURAS DE TRANSIÇÃO VÍTREA, FUSÃO E CRISTALIZAÇÃO OBTIDAS VIA ANÁLISE TÉRMICA PARA OS ATIVOS QUERCETINA E RUTINA ENCAPSULADOS EM PLAC E PCL.

	PCL	PLAC	PCL Q	PCL R	PLAC Q	PLAC R
T_g (°C)	- 40	51	- 40	-42	48	52
T_m (°C)	60	165	50	52	120/350	160
T_c (°C)	59	-	45	22	97	98

Pode-se dizer, em linhas gerais, que o princípio ativo encapsulado, devido sua baixa porcentagem, fica protegido pela cápsula polimérica e uma análise térmica não é conclusiva com relação à encapsulação, no entanto aponta para tal, pois são observadas modificações nos perfis térmicos dos materiais.

6.8.3 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

Os resultados das massas molares das micropartículas poliméricas contendo 10 % dos ativos, assim como a polidispersão (PD) estão sumarizados na Tabela 12. As espécies de massa molar elevada influenciam o valor de Mw enquanto que o Mn é influenciado mais significativamente pelas cadeias menores.

TABELA 12 – VALORES DE MASSAS MOLARES E POLIDISPERSIVIDADE OBTIDOS VIA ANÁLISE DE CROMATOLOGRAFIA DE PERMEACÃO EM GEL (GPC).

	PCL	PCL IV	PCL Q	PCL R	PLAC	PLAC IV	PLAC Q	PLAC R
Mw (g.mol ⁻¹)	23141	23553	24406	22704	14372	15442	16188	17638
Mn (g.mol ⁻¹)	13056	1380	607	1031	10807	1305	605	1022
Mz (g.mol ⁻¹)	31320	31795	31768	31279	17645	19304	20184	21707
PD	1,77	1,75	1,58	1,90	1,33	1,43	1,37	1,34
		1,02	1,10	1,05		1,02	1,09	1,06

A análise por GPC das micropartículas vazias e as contendo os ativos, demonstra que: partículas vazias dos polímeros PCL e PLAC obtidos via abertura dos anéis dos monômeros ϵ -caprolactona e lactídeo apresentaram massas

molares médias em torno de 13000 g.mol^{-1} e 11000 g.mol^{-1} respectivamente [100]. Já a avaliação das micropartículas contendo os ativos ivermectina, quercetina e rutina, apresentaram dois valores de massas molares médias e de polidispersividade. Isto se deve ao fato de que ao eluir pela coluna do GPC, a amostra apresentou dois componentes com tempos de retenção distintos, sendo a de maior volume, em menor tempo, a do polímero e a de menor volume e em maior tempo a dos ativos. Assim, os valores de massa molar média: 1350 g.mol^{-1} , 550 g.mol^{-1} e 980 g.mol^{-1} podem ser atribuídos aos ativos: ivermectina, quercetina e rutina respectivamente.

6.8.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV) das partículas elaboradas a partir da ivermectina encapsuladas em PCL, PLAC e PCLOR indicou um formato relativamente homogêneo com partículas esféricas e em escala micrométrica, com tamanho médio $5 \mu\text{m}$.

As fotomicrografias das micropartículas de PLAC, PCL e PCLOR vazias e contendo o padrão ivermectina obtidas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), são mostradas na Figura 58.

FIGURA 58 - FOTOMICROGRAFIAS DE MICROPARTÍCULAS (MP) COM AMPLIAÇÃO 10000X

Fig. 58a – MP PCL CÁPSULA VAZIA

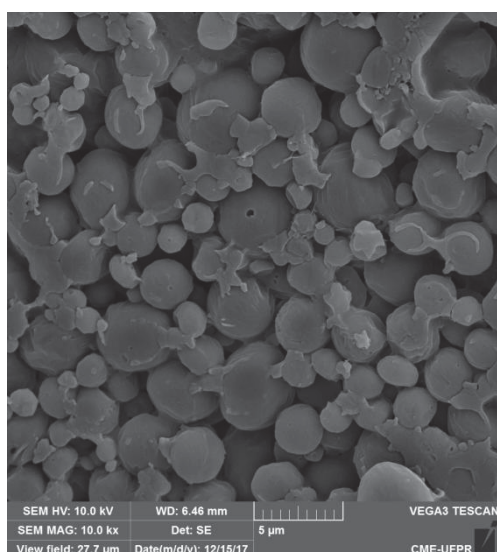


Fig. 58b – MP PLAC CÁPSULA VAZIA

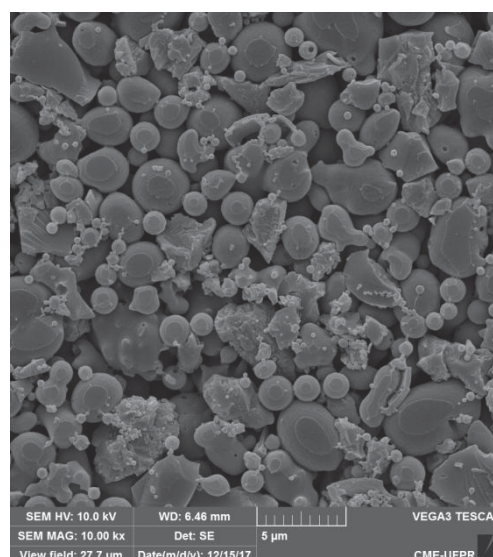
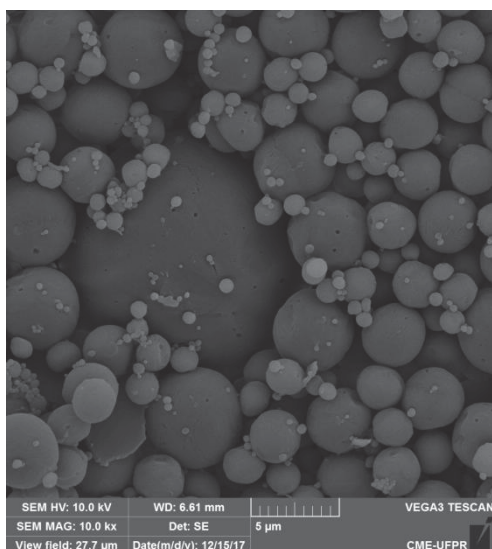
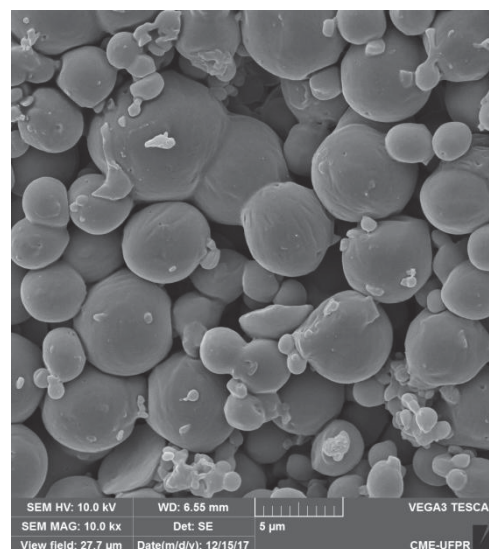
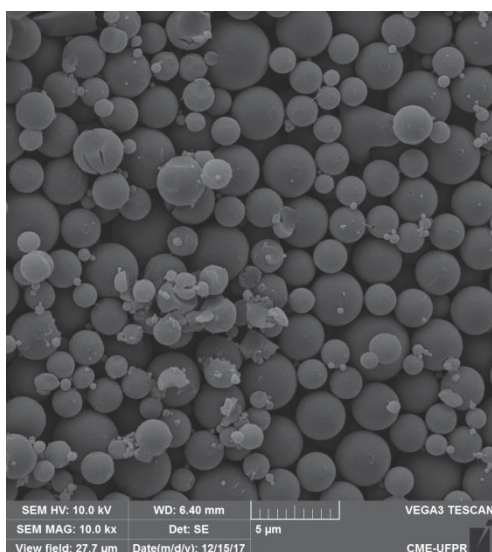
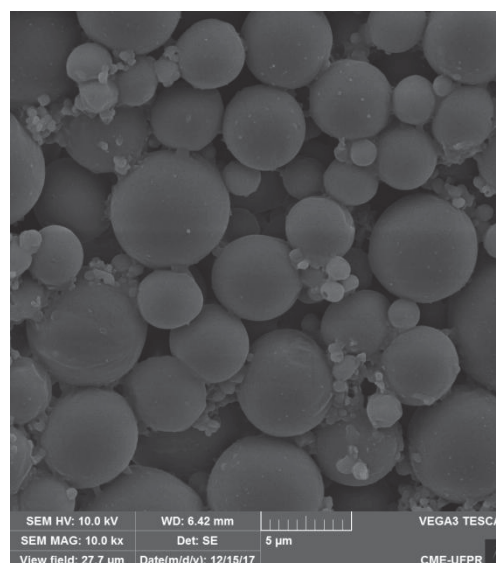


Fig. 58c – MP PCLOR CÁPSULA VAZIA

Fig. 58d – MP PCL CONTENDO O ATIVO
IVERMECTINAFig. 58e – MP PLAC + IV CONTENDO O
ATIVO IVERMECTINAFig. 58f – MP PCLOR + IV CONTENDO O
ATIVO IVERMECTINA

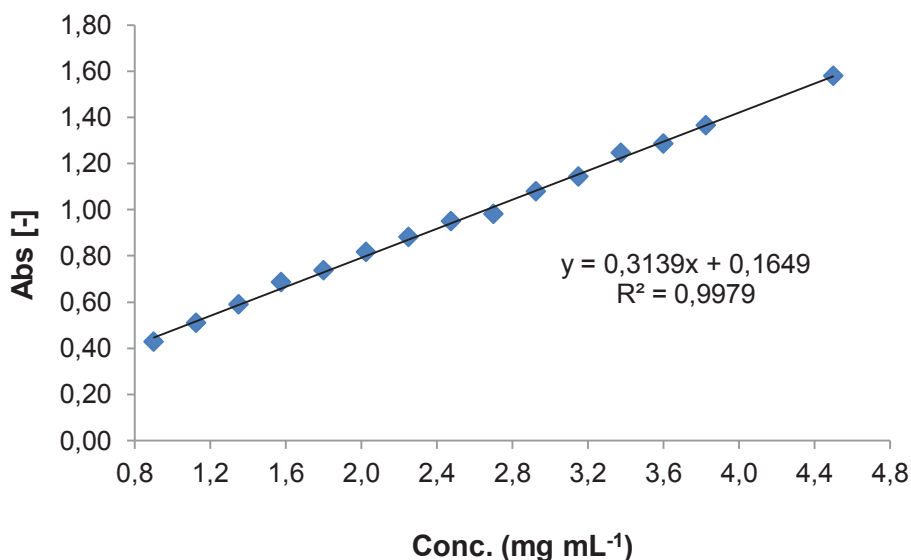
As amostras apresentaram-se esféricas na grande maioria e outras delas disformes, de tamanhos variados e com superfícies lisas, e algumas levemente rugosas com erupção em suas superfícies, características estas dos polímeros utilizados no preparo das formulações. Sabe-se que a superfície lisa observada nas micropartículas de derivados da PCL é simplesmente resultado da semicristalinidade do polímero [71].

As fotomicrografias das partículas contendo ivermectina, avaliadas por MEV, demonstra que com o polímero PCLOR apresentaram-se mais uniformes quando comparadas à PCL e ao PLAC. De modo geral, as micropartículas contendo os ativos, ao serem caracterizadas por FTIR, DSC, GPC e MEV apontam para que a encapsulação realmente tenha ocorrido.

6.8.5 Eficiência de encapsulação por espectroscopia ultravioleta visível (UV-VIS)

As análises por UV VIS das soluções aquosas de ivermectina presentes no sobrenadante das micropartículas centrifugadas mostraram pico de absorção máxima em 245nm no qual a curva analítica apresentou uma regressão linear significativa, com um coeficiente de correlação linear (R^2) da ordem de 0,9979 (Figura 59). A equação de reta $y = 0,3139x + 0,1649$, para este método, representa a curva analítica construída, no qual o coeficiente de absorvidade molar correspondente ao coeficiente angular da reta é $0,3139 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ e o coeficiente linear 0,1649, em unidades arbitrárias (u.a.).

FIGURA 59 - CURVA ANALÍTICA PARA A IVERMECTINA COM AVALIAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE SOBRENADANTES ORIUNDOS DA ENCAPSULAÇÃO.



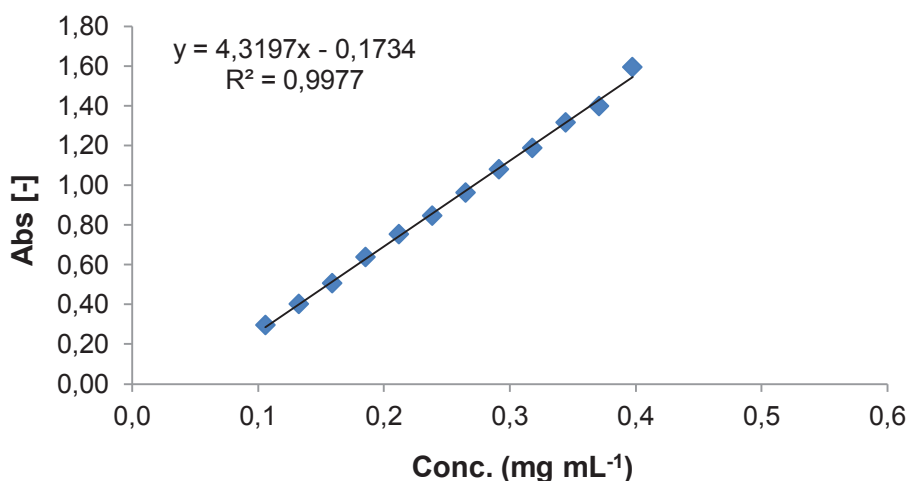
Os espectros de absorção dos sobrenadantes provenientes de cada amostra de micropartículas desenvolvidas neste estudo mostraram um pico

máximo de absorção em 245nm, idêntico aos obtidos para as soluções da ivermectina em solução aquosa. A avaliação quantitativa por UV VIS dos sobrenadantes permitiu determinar a taxa de encapsulação da ivermectina.

Logo, para as amostras analisadas através dos sobrenadantes contendo ivermectina pelo método indireto, com leituras em UV VIS, foi possível avaliar, tomando a curva analítica como base, que as eficiências de encapsulação foram 92,4%, 76% e 81,3% respectivamente nos polímeros PCL, PLAC e PCLOR.

De forma similar, análises por UV VIS das soluções aquosas de quercetina presentes no sobrenadante das micropartículas centrifugadas mostraram pico de absorção máxima em 375nm no qual a curva analítica apresentou coeficiente de correlação linear (R^2) da ordem de 0,9977 (Figura 60). A equação de reta $y = 4,3197x - 0,1734$, para este método, representa a curva analítica construída, no qual o coeficiente de absorvidade molar correspondente ao coeficiente angular da reta é $4,3197 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ e o coeficiente linear 0,1734, em unidades arbitrárias (u.a.).

FIGURA 60 - CURVA ANALÍTICA PARA A QUERCETINA COM AVALIAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE SOBRENADANTES ORIUNDOS DA ENCAPSULAÇÃO.

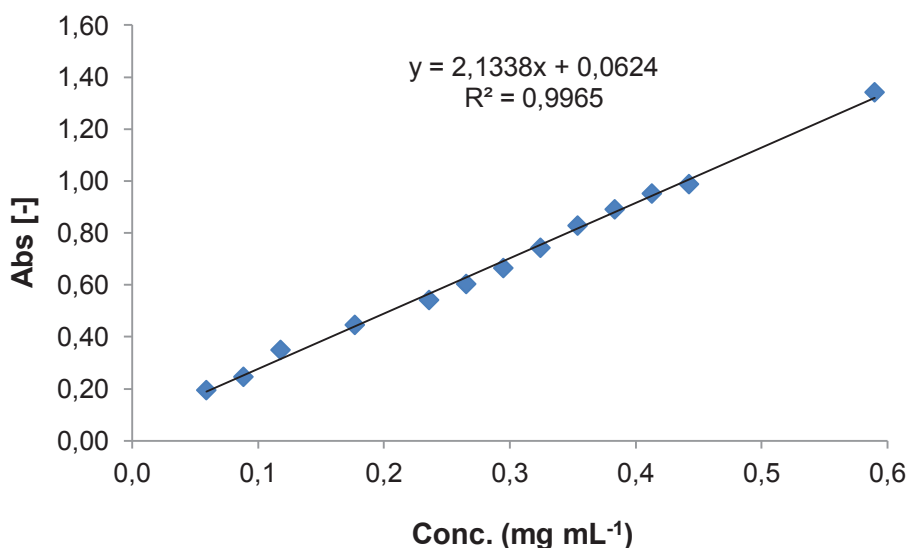


Assim, para as amostras analisadas através dos sobrenadantes contendo quercetina pelo método indireto, com leituras em UV VIS, foi possível avaliar, tomando a curva analítica como base, que as eficiências de encapsulação foram 89,5%, e 78,9% respectivamente nos polímeros PCL e PLAC.

Por fim, as soluções aquosas de rutina presentes no sobrenadante das micropartículas centrifugadas mostraram pico de absorção máxima em 225 nm no

qual a curva analítica apresentou uma regressão linear significativa, com um coeficiente de correlação linear (R^2) da ordem de 0,9965 (Figura 61). A equação de reta $y = 2,1338x + 0,0625$, para este método, representa a curva analítica construída, no qual o coeficiente de absorvidade molar correspondente ao coeficiente angular da reta é $2,1338 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ e o coeficiente linear 0,0625, em unidades arbitrárias (u.a.).

FIGURA 61 - CURVA ANALÍTICA PARA A RUTINA COM AVALIAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE SOBRENADANTES ORIUNDOS DA ENCAPSULAÇÃO.



De posse destes dados, para as amostras analisadas através dos sobrenadantes contendo rutina pelo método indireto, com leituras em UV VIS, foi possível avaliar, tomando a curva analítica como base, que as eficiências de encapsulação foram 91,1%, e 84,4% respectivamente nos polímeros PCL e PLAC.

6.8.6 Estudo da liberação *in vitro* dos ativos encapsulados

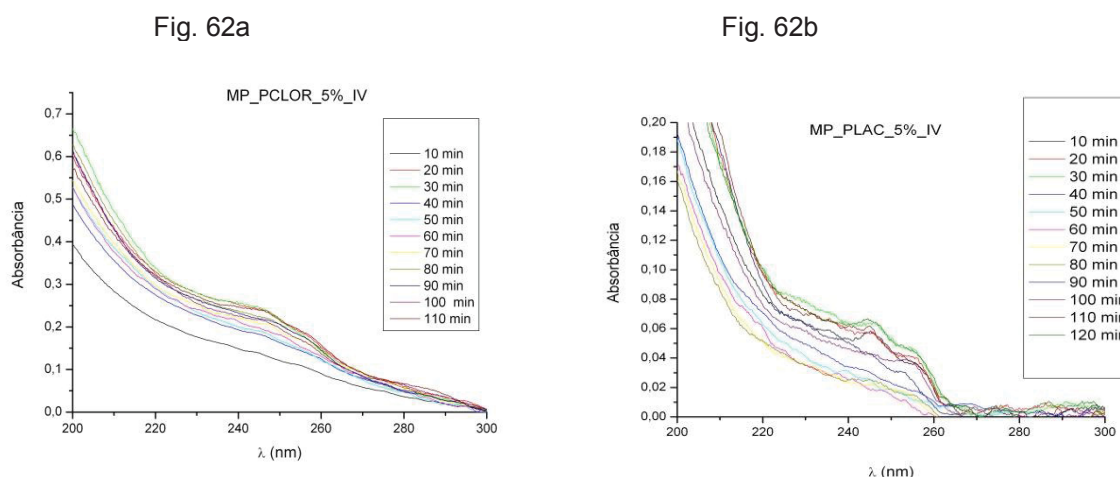
O estudo da liberação *in vitro*, em triplicata, foi conduzido para as micropartículas contendo os ativos ivermectina, quercetina e rutina, sendo apresentado seguir as formulações com 5% dos ativos nos polímeros PCLOR, PCL e PLAC.

Inicialmente, o aparato foi montado, utilizando-se de um becker contendo água destilada a 38°C afim de mimetizar a temperatura corporal de animais ruminantes, sob agitação magnética e controle de temperatura. A massa de micropartículas colocada no interior de cada célula de vidro foi correspondente a 20 mg em 100 mL de água. A coleta das alíquotas provenientes do estudo de liberação foi realizada utilizando pipeta volumétrica, nos intervalos de tempo pré-determinados de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 e 120 min.

As alíquotas foram analisadas por espectrofotometria na região do ultravioleta em 245 nm, 375 nm e 225 nm para ivermectina, quercetina e rutina respectivamente, a fim de determinar a concentração dos ativos presentes nas soluções aquosas.

A seguir (Figura 62) são apresentados os perfis de liberação.

FIGURA 62 – ESPECTROS OBTIDOS VIA UV VIS DOS ATIVOS LIBERADOS POR UM PERÍODO DE 120 MINUTOS.



Ao avaliar a ivermectina encapsulada em PCLOR (Figura 62a) foi possível observar uma crescente concentração deste ativo durante o período de análise de liberação, sendo que, comparativamente à curva analítica, a concentração da ivermectina varia de 0,85 para 2,0 mg.mL⁻¹ enquanto que encapsulada em PLAC (Figura 62b), sua concentração também foi crescente porém com variação de 0,0125 para 0,0375 mg.mL⁻¹ no mesmo intervalo de tempo. Considerando que houve encapsulação de 5% da ivermectina em cada caso, a liberação ocorre mais lentamente quando se trata do PCLOR.

Fig. 62c

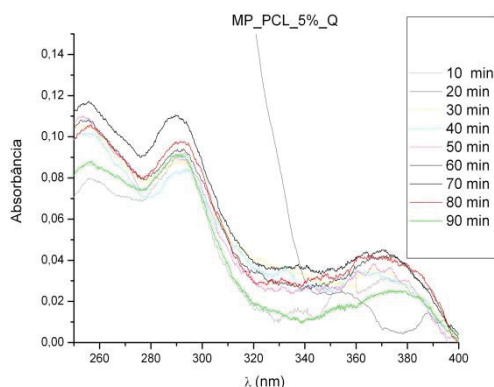
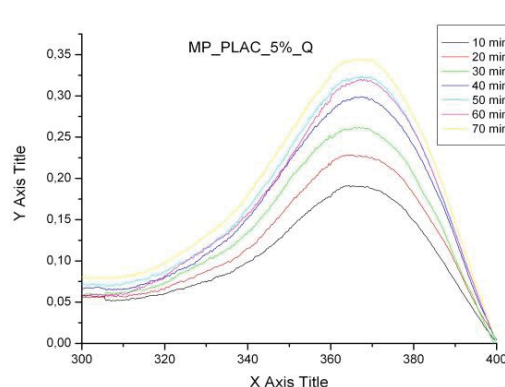


Fig. 62d



Ao avaliar a quercetina encapsulada em PCL (Figura 62c) comparada ao PLAC (Figura 62d) foi possível observar uma crescente concentração deste ativo em ambos durante o período de análise de liberação. Verificou-se um aumento da concentração de 0,005 para 0,008 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ quando encapsulada em PCL e de 0,084 para 0,165 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ quando encapsulada em PLAC. Portanto, a liberação da quercetina encapsulada em PLAC ocorre mais lentamente quando comparada sua encapsulação em PCL.

Fig. 62e

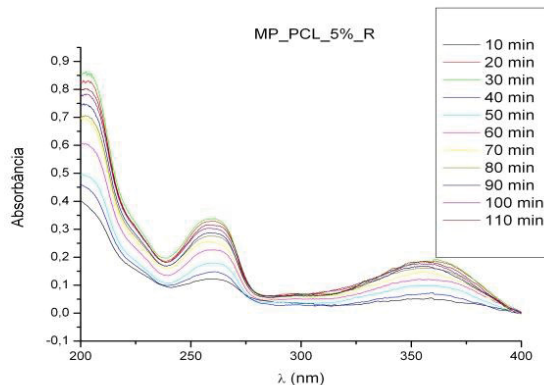
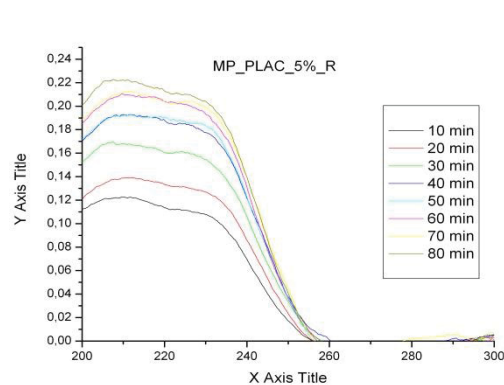


Fig. 62f

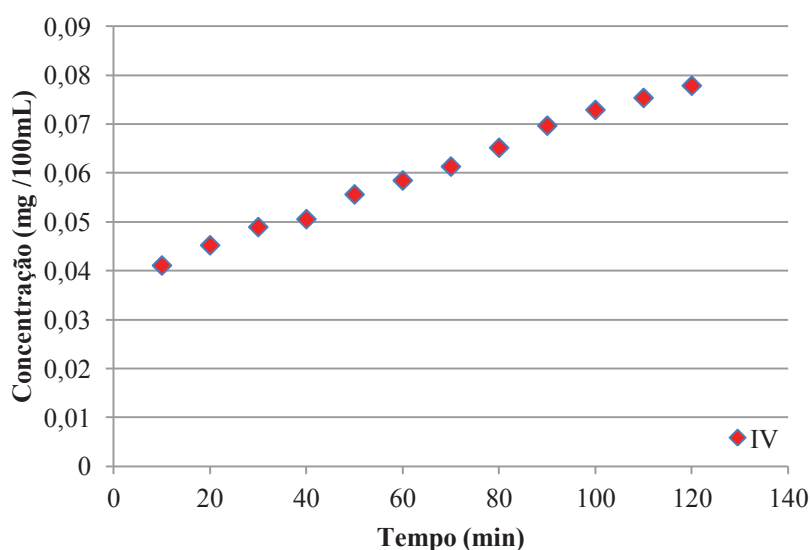


Ao avaliar a rutina encapsulada em PCL (Figura 62e) frente ao PLAC (Figura 62f) foi possível observar uma crescente concentração deste ativo em ambos durante o período de análise de liberação. Notadamente, ao ser avaliada a concentração através da curva analítica, verificou-se um aumento da concentração de 0,040 para 0,125 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ quando encapsulada em PCL e de 0,004 para 0,060 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ quando encapsulada em PLAC. Logo, a liberação da rutina encapsulada em PLAC ocorre mais lentamente quando comparada sua encapsulação em PCL.

Para efeito comparativo, são apresentados os gráficos de concentração versus tempo para o estudo de liberação da ivermectina encapsulada no PCLOR (Figura 63), ivermectina, quercetina e rutina encapsuladas em PLAC (Figura 64) e em PCL (Figura 65) além do gráfico que avalia simultaneamente a ivermectina encapsulada nos polímeros PCLOR, PLAC e PCL (Figura 66).

Quando a ivermectina foi encapsulada no polímero PCLOR, verificou-se que a concentração dobrou no período avaliado.

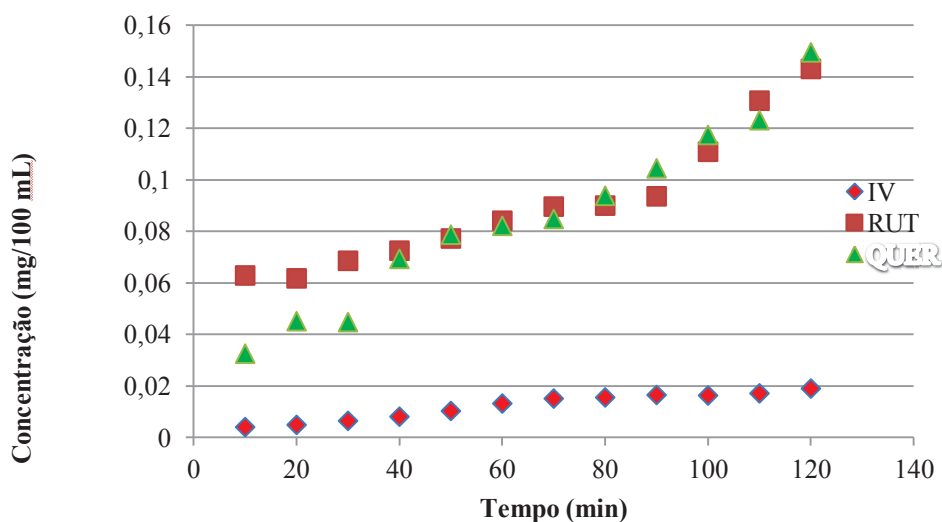
FIGURA 63 – GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO VS TEMPO PARA O ESTUDO DE LIBERAÇÃO DO ATIVO IVERMECTINA ENCAPSULADA EM PCLOR



Ao ser utilizado o polímero PLAC, diferentemente do PCLOR, a ivermectina apresentou uma sutil liberação no tempo avaliado. A partir de 70 minutos do início da análise a concentração se manteve praticamente constante, fato que pode ser explicado devido ao mecanismo de liberação, rápida, provavelmente em função do rompimento completo das cápsulas que contém o ativo.

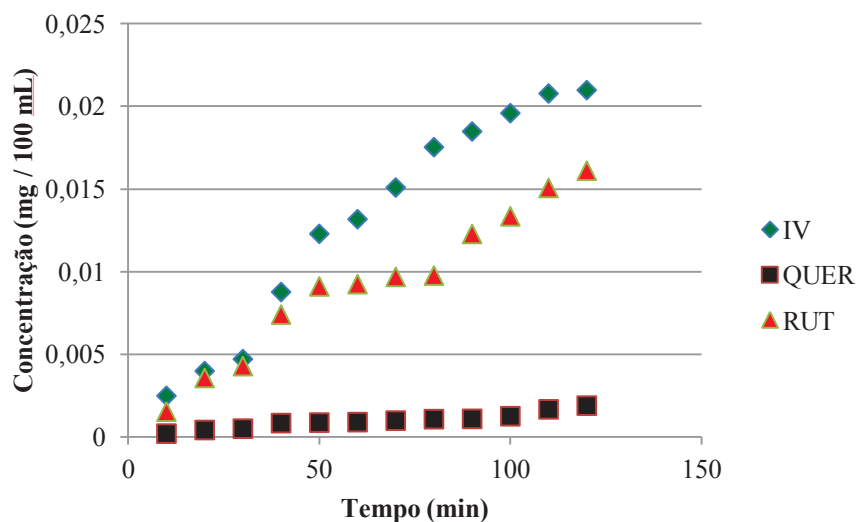
Para os ativos quercetina e rutina encapsulados em PLAC foi possível observar uma liberação crescente e semelhante. A rutina, no período de 40 minutos teve uma liberação lenta enquanto a quercetina uma liberação mais intensa, apresentando o dobro da concentração no mesmo período. A partir de 40 minutos de análise, ambos tiveram um aumento da concentração praticamente igual até os 120 minutos.

FIGURA 64 – GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO VS TEMPO PARA O ESTUDO DE LIBERAÇÃO DOS ATIVOS: IVERMECTINA, QUERCETINA E RUTINA ENCAPSULADOS EM PLAC.



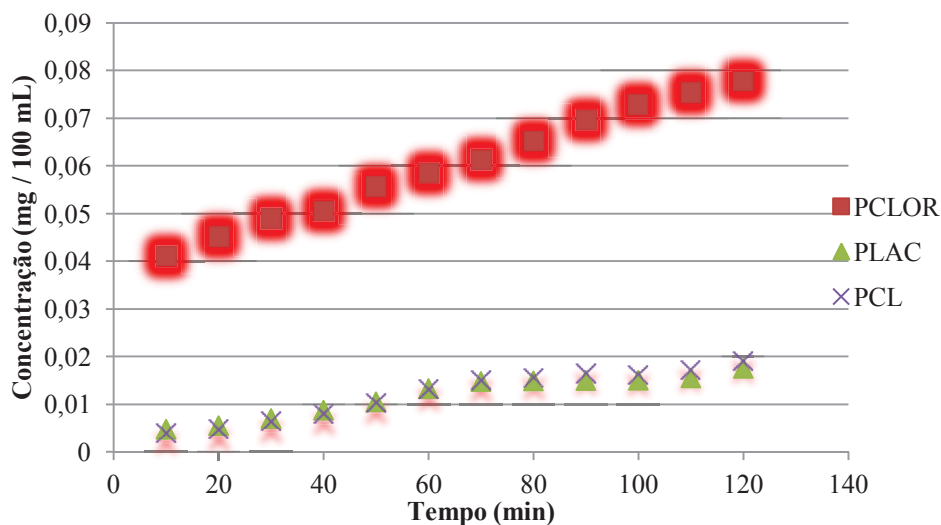
Quando encapsulados no polímero PCL, a quercetina apresentou uma liberação sutil enquanto ivermectina e rutina uma crescente concentração. Neste caso a ivermectina apresentou um melhor desempenho.

FIGURA 65 – GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO VS TEMPO PARA O ESTUDO DE LIBERAÇÃO DOS ATIVOS: IVERMECTINA, QUERCETINA E RUTINA ENCAPSULADOS EM PCL.



Por fim, tomando o composto modelo ivermectina, o qual é amplamente difundido e aplicado na terapêutica veterinária, comparou-se o perfil de liberação nos três polímeros estudados: PCLOR, PLAC e PCL.

FIGURA 66 – GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO VS TEMPO PARA O ESTUDO DE LIBERAÇÃO DO ATIVO IVERMECTINA ENCAPSULADA NOS POLÍMEROS: PCLOR, PLAC E PCL.



Para uma liberação lenta de ivermectina em baixas concentrações são indicados os polímeros PLAC e PCL visto que apresentam um comportamento muito semelhante. Porém, sendo necessária uma liberação mais intensa em um patamar de maiores concentrações, o PCLOR seria mais adequado.

Como sugestão para trabalhos futuros, sugere-se a encapsulação dos mesmos ativos, porém em várias concentrações diferentes daquelas avaliadas. Também para a obtenção de novos parâmetros, tal análise de liberação poderia ser realizada em um período maior para verificar a partir de qual tempo as concentrações se mantêm constantes para os variados ativos encapsulados nos polímeros propostos.

Outro fator a ser modificado poderia ser a utilização de um tampão fosfato-salino para que o PH se mantenha constante e esta solução efetivamente mimetize um ambiente corporal. Uma vez obtidas as micropartículas, estas ainda podem ser avaliadas em testes *in vitro*, para verificar o comportamento de larvas de parasitos, que afetam a sanidade animal, frente à crescente concentração dos ativos liberados.

Por fim, como os polímeros aplicados apresentam características de biodegradabilidade e devido ao apelo ambiental amplamente difundido por conta da utilização desenfreada da ivermectina, com eliminação em altas taxas no meio ambiente, as micropartículas desenvolvidas neste trabalho, mais especificamente aquelas contendo os flavonoides quercetina e rutina, são uma alternativa quando se trata da sanidade animal direcionadas para o combate de ectoparasitos.

7 CONCLUSÕES

- As reações de transesterificação do óleo de milho com DEG empregando catálise alcalina mostraram resultados satisfatórios, pois as metodologias empregadas para as transesterificações do óleo de milho revelaram resultados comparáveis aos da literatura no que se refere aos dados inferidos dos espectros de RMN e FTIR.
- Os dados reológicos mostraram que o óleo de milho transesterificado, nas diversas condições, apresentaram viscosidades diferentes quando comparados ao óleo precursor.
- A caracterização por RMN e por FTIR apontam que nas condições propostas, houve a formação do hidroxiformiato dos produtos oriundos do óleo de milho transesterificado (OMT).
- A análise reológica demonstra que houve mudança na viscosidade do óleo de milho transesterificado-epoxidado (OMITE) quando comparado ao seu precursor transesterificado.
- A copolimerização entre os produtos derivados do óleo de milho foi limitada pelo tamanho da massa molar, logo, sua aplicação nas encapsulações foi inviabilizada.
- A copolimerização entre o óleo de rícino e a policaprolactona se mostrou efetiva uma vez que foi comprovado através das técnicas analíticas.
- O copolímero PCLOR pode ser aplicado de forma eficiente no processo de encapsulação do fármaco ivermectina. Os polímeros PCL e PLAC foram eficientes na encapsulação dos ativos: ivermectina, quercetina e rutina.
- Os dados obtidos por FTIR, DSC e GPC para as micropartículas, sugerem que a encapsulação dos ativos tenha ocorrido
- A formação de cápsulas, em escala *micro*, foi atingida e comprovada através da MEV.
- A eficiência de encapsulação apresenta valores atrativos comprovados através do método indireto.
- O estudo de liberação demonstrou que os ativos encapsulados nos polímeros sintetizados apresentaram uma liberação gradual no período avaliado.

REFERÊNCIAS

- [1] LEE, S.H., ZHANG, Z. & FENG, S-S. Nanoparticles of poly(lactide)-tocopheryl polyethylene (PLA-TPGS) copolymers for protein drug delivery. *Biomaterials* v.28, p.2041-2050 (2007).
- [2] KIM, S. K.; VAISHALI, B.; LEE, E.; LEE, S.; LEE, Y.; KUMAR, T.S.; MOON, H.T. & BYUN, Y. Oral delivery of chemical conjugates of heparin and deoxycholic acid in aqueous formulation. *Thrombosis Research*, 117(4), 419-427, 2005.
- [3] SIMÕES, C.M.O.SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. In: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª Edição. Editora UFSC, Florianópolis, Editora UFRGS, Porto Alegre, 2009. 1102 p.
- [4] CATTO, J. B. et al. Weight gain and control of endo- and ectoparasites of beef heifers treated with allopathic, herbal and homeopathic drug. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal, v. 22, n. 4, p. 502-510, out.-dez. 2013.
- [5] OLIVEIRA, R. B.; LIMA, E. M. Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos. *Revista eletrônica de farmácia*. v.3, p.29-35 (2006).
- [6] PENG, Y. L.; HUANG, Y.; CHANG, H. J.; KUO, C. Y.; LIN, C. C. Synthesis and characterization of biodegradable polylactides and polylactide-block-poly(L-lysine) copolymers. *Polymer* v.51, p.4329-4335 (2010).
- [7] RANCAN, F.; PAPA KOSTAS, D.; HADAM, S.; HACKBARTH, S.; DELAIR, T.; PRIMARD, C.; STERRY, B. W.; BLUME-PEYTAVI, U.; VOGT, A. Investigation of Polylactic Acid (PLA) Nanoparticles as Drug Delivery Systems for Local Dermatotherapy. *Pharmaceutical Research* v.26, p.2027-2036 (2009).
- [8] VIEIRA, A.C. et al. Mechanical study of PLA–PCL fibers during in vitro degradation. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* v., p.451 – 460 (2011).
- [9] JAHNO, V. D.; LIGABUE, R.; EINLOFT, S.; SANTOS, L. A.; FERREIRA, M. R. W. F.; BOMBONATO-PRADO, K. F.; Síntese e caracterização do poli(ácido L-lático) e sua avaliação em culturas de osteoblastos humanos. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 15 a 19 de Novembro de 2006, Foz do Iguaçu, PR, Brasil.
- [10] FECZKÓ, T.; TÓTH, J.; GYENIS, J. Comparison of the preparation of PLGA-BSA nano and microparticles by PVA, poloxamer and PVP. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2007.
- [11] YECHANG, F.; YANG, H.; LIMIN, M. Biobased thiol-epoxy shape memory networks from gallic acid and vegetable oils. *European Polymer Journal*. In press. 2018.
- [12] MOLERO, C., DE LUCAS, A. & RODRÍGUEZ, J. F. Activities of octoate salts as novel catalysts for the transesterification of flexible polyurethane foams with diethylene glycol. *Polym. Degrad. Stab.* 94, 533–539 (2009).

- [13] AI, F.-F. et al. Application of random forests to select premium quality vegetable oils by their fatty acid composition. *Food Chem.* 143, 472–8 (2014).
- [14] GOICOECHEA, E.; GUILLÉN, M.D. Chapter 29 - Oxidation Products of Corn Oil at Room Temperature Processing and Impact on Active Components in Food, 2015, Pages 243-249.
- [15] SANTAN, H.; JAMES, C.; FRATINI, E. Structure-property relationships in solvent free adhesives derived from castor oil. *Industrial Crops and products.* 121, 90-98 (2018).
- [16] Negm, N.; Rabie, A.; Mohammed, E. Molecular interaction of heterogeneous catalyst in catalytic cracking process of vegetable oils: chromatographic and biofuel performance investigation. *Applied Catalysis B: Environmental.* 239, 36-45 (2018).
- [17] VIEIRA, C. G. Hidroformilação de Monoterpenos para -Mentênicos Catalisada por Complexos de Ródio. Tese (Mestrado) UFMG, 2009.
- [18] DIAO, E., HOU, H. & DONG, H. Ozonolysis mechanism and influencing factors of aflatoxin B1: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 33, 21–26 . 2013.
- [19] DHALIWAL, G.; ANANDAN, S.; NAM, J. Development and characterization of polyurethane foams with substitution of polyether polyol with soy-based poliol. *European Polymer Journal.* 107, 105-117 (2018).
- [20] ZHANG, C.; GARRISON, T.; MADBOULY, S. Recent advances in vegetable oil-based polymers and their composites. *Progress in Polymer Science.* 71, 91-143 (2017).
- [21] SEBENIK, U.; Krajnc, M. Influence of the soft segment length and content on the synthesis and properties of isocyanate-terminated urethane prepolymers. *International Journal of Adhesion & Adhesives.* v 27, p. 527–535, 2007.
- [22] CAMPOS, A.; MARCONCINI, J. M.; MARTINS-FRANCHETTI, S. M.; MATTOSO, L. H. C. Thermal, Mechanical and Morphological Behavior of Starch Thermoplastic (TPS) and Polycaprolactone (PCL). *Anais 11º Congresso Brasileiro de Polímeros* (2011).
- [23] AI, F.-F. et al. Application of random forests to select premium quality vegetable oils by their fatty acid composition. *Food Chem.* 143, 472–8 (2014).
- [24] BELGACEM, M. N. & GANDINI, A. *Monomers , Polymers and Composites.* 562 (Elsevier, 2008).
- [25] SHARMA, V. & KUNDU, P. P. Condensation polymers from natural oils. *Prog. Polym. Sci.* 33, 1199–1215 (2008).
- [26] DESAI, S. D., PATEL, J. V. & SINHA, V. K. Polyurethane adhesive system from biomaterial-based polyol for bonding wood. *Int. J. Adhes. Adhes.* 23, 393–399 (2003).

- [27] ALBUQUERQUE, G. Obtenção e caracterização físico-química do Biodiesel de Canola (*Brassica napus*). Diss. Mestr. - UFPB 100 (2006).
- [28] NEPA, N. de E. e P. em A. – TACO- Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. UNICAMP 4 edição, 1– 161 (2011).
- [29] SUAREZ, P. A. Z., MENEGHETTI, S. M. P., MENEGHETTI, M. R. & WOLF, C. R. Transformação de Triacilglicerídeos em Combustíveis, Materiais Poliméricos e Insumos Química: Algumas Aplicações da Catálise na Olequímica. *Quim. Nova* 30, 667–676 (2007).
- [30] VERZIU, M., COMAN, S. M., RICHARDS, R. & PARVULESCU, V. I. Transesterification of vegetable oils over CaO catalysts. *Catal. Today* 167, 64–70 (2011).
- [31] YUSUP, S. & KHAN, M. A. Base catalyzed transesterification of acid treated vegetable oil blend for biodiesel production. *Biomass and Bioenergy* 34, 1500–1504 (2010).
- [32] RAMEZANI, K., ROWSHANZAMIR, S. & EIKANI, M. H. Castor oil transesterification reaction: A kinetic study and optimization of parameters. *Energy* 35, 4142–4148 (2010).
- [33] DIAO, E., HOU, H. & DONG, H. Ozonolysis mechanism and influencing factors of aflatoxin B1: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 33, 21–26 (2013).
- [34] DA SILVA, J. G., VIEIRA, C. G., DOS SANTOS, E. N. & GUSEVSKAYA, E. V. Hydroformylation of endocyclic double bonds in para-menthenic terpenes under mild conditions. *Appl. Catal. A Gen.* 365, 231–236 (2009).
- [35] HAZMI, A. S. A., AUNG, M. M., ABDULLAH, L. C., SALLEH, M. Z. & MAHMOOD, M. H. Producing *Jatropha* oil-based polyol via epoxidation and ring opening. *Ind. Crops Prod.* 50, 563–567 (2013).
- [36] ODETOYE, T. E., OGUNNIYI, D. S. & OLATUNJI, G. Improving *Jatropha curcas* Linnaeus oil alkyd drying properties. *Prog. Org. Coatings* 73, 374–381 (2012).
- [37] JIA, L. K., GONG, L. X., JI, W. J. & KAN, C. Y. Synthesis of vegetable oil based polyol with cottonseed oil and sorbitol derived from natural source. *Chinese Chem. Lett.* 22, 1289–1292 (2011).
- [38] CAMPANELLA, A. & BALTANÁS, M. Degradation of the oxirane ring of epoxidized vegetable oils in liquid–liquid heterogeneous reaction systems. *Chem. Eng. J.* 118, 141–152 (2006).
- [39] HOLLEBEN, M. L. A. VON; SCHUCH, C. M.; LIVOTTO, P. R.; Experimental and Theoretical Study of the Reactivity of the RCN/H₂O₂ System on the Epoxidation Reaction, 5th European Symposium on Organic Reactivity, Santiago de Compostela, Espanha, 1995, 95.

- [40] YE, X.; JIANG, P.; ZHANG, P.; JIA, C. Synthesis, characterization, and catalytic activity in the epoxidation of vegetable oil, *Catal. Lett.* 2010, 137, 88-93.
- [41] RUBIO, M. G. RAMÍREZ-GALICIA, L. J. LÓPEZ-NAVA, *THEOCHEM* 2005, 726, 261.
- [42] ARBAIN, Noor H.; SALIMON, *Jumat. Synthesis And Characterization Of Ester Trimethylolpropane Based JatrophaCurcas Oil As Biolubricant Base Stocks. Journal of Science and Technology*, p. 47–58, 2011.
- [43] SOUZA, V. H. R., SILVA, S. A., RAMOS, L. P. & ZAWADZKI, S. F. Synthesis and Characterization of Polyols Derived from Corn Oil by Epoxidation and Ozonolysis. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 89, 1723–1731 (2012).
- [44] JIA, L. K., GONG, L. X., JI, W. J. & KAN, C. Y. Synthesis of vegetable oil based polyol with cottonseed oil and sorbitol derived from natural source. *Chinese Chem. Lett.* 22, 1289–1292 (2011).
- [45] HAZMI, A. S. A., AUNG, M. M., ABDULLAH, L. C., SALLEH, M. Z. & MAHMOOD, M. H. Producing Jatropha oil-based polyol via epoxidation and ring opening. *Ind. Crops Prod.* 50, 563–567 (2013).
- [46] SILVA, S.A. Tese de Doutorado. Síntese e caracterização de poliuretanos - espumas flexíveis puras e compósitos a partir de polióis à base de óleo de milho: e adesivos à base de derivados de óleo de rícino. UFPR, 2014.
- [47] FLORES, R.; NICOLOSO, F.T.; BRONDANI, D.; MALDANER, J.; CEZAROTTO, V.; GIACOMELLI, S.R. Extração de ecdisterona em raízes de ginseng brasileiro. *Ciência Rural*, 39, 1223-1226, 2009.
- [48] MINOZZO, J.C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; OLORTEGI, C.C.; SOARES, V.V.; COSTA, A.J. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for immunodiagnostic of bovine cysticercosis and kinetics of antibodies production against-*Cysticercus bovis*. *Ciência Rural*, 34, 330-338, 2004.
- [49] BLACKHALL, W.; LIU, H-T.; XU, M.; PRICHARD, R.; BEECH, R. Selection at a P-glycoprotein gene in ivermectin and moxidectin-selected strains of *Haemonchus contortus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 95, 193-201, 1998.
- [50] CHAVES, T.L.; RICARDO, L.; BRANDÃO, M.G.L. Useful Brazilian plants under the view of the writer-naturalist João Guimarães Rosa *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Volume 25, Issue 5, September–October 2015, Pages 437-444.
- [51] CARVALHO C, O. Eficácia de extratos vegetais em nematódeos parasitas: avaliação *in vitro* em *Haemonchus contortus* e avaliação *in vivo* em *Strongyloides venezuelensis*, Botucatu [Dissertação de Mestrado em Biologia Geral e Aplicada-UNESP], 2011.

[52] CATTO, J. B. et al. Weight gain and control of endo- and ectoparasites of beef heifers treated with allopathic, herbal and homeopathic drug. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal, v. 22, n. 4, p. 502-510, out.-dez. 2013.

[53] KHALIL, A.; SAMRAH, H. In vivo combined treatment of rats with ivermectin and aged garlic extract attenuates ivermectin-induced cytogenotoxicity in bone marrow cells. *Research in Veterinary Science*.120, 94-100 (2018).

[54] FARRAG, Y.; IDE, W.; MONTERO, B. Preparation of starch nanoparticles loaded with quercetin using nanoprecipitation technique. *International Journal of Biological Macromolecules*. 114, 426-433 (2018).

[55] VU, H.; HOOK, S.; SIQUEIRA, S. Are phytosomes a superior nanodelivery system for the antioxidant rutin? *International Journal of Pharmaceutics*. 548, 82-91 (2018).

[56] REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA – ISSN: 1679-7353. Ano VII – Número 12 – Janeiro de 2009 – Periódicos Semestral.

[57] PRIETSCH, R. F. et al. *Science and animal health*. V. 2. N.1 jan/jun. 2014. P 03-26.

[58] CLARO, N. S. Características físico-químicas de um poliuretano derivado do óleo de mamona utilizado para implantes ósseos. [Dissertação (Doutorado)]. São Carlos, SP: Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 127, 1997.

[59] ROTHEN-WEINHOLD, A.; GURNY, R.; DAHN, M. Formulation and technology aspects of controlled drug delivery in animals. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v. 3, n. 7, p. 222-231, 2000.

[60] MILLER, A. J.; OEHLER, D. D.; POUND, M. J. Delivery of ivermectin by injectable microspheres. *Journal of Economic Entomology*, v. 91, n. 3, p. 655-659, 1998.

[61] WINZENBURG, G.; SCHIMIDT, C.; FUCHS, S. et al. Biodegradable polymers and their potential use in parenteral veterinary drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, n. 10, p. 1453-1466, 2004.

[62] LEE, S.H., ZHANG, Z. & FENG, S-S. Nanoparticles of poly(lactide)-tocopheryl polyethylene (PLA-TPGS) copolymers for protein drug delivery. *Biomaterials* v.28, p.2041-2050 (2007).

[63] SIMÕES, C.M.O.SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. In: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª Edição. Editora UFSC, Florianópolis, Editora UFRGS, Porto Alegre, 2009. 1102 p.

[64] SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L. et al. Physicochemical characterization and stability of the polymeric nanoparticle systems for drug administration. *Química Nova.*, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

- [65] BURNS, P. J.; TICET, R.; MASON, D. W. et al. Control of estrus and ovulation in mares using progesterone and estradiol biodegradable microspheres in a multicenter clinical trial, Proceedings of the 21 st International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials, p.86-88, 1994.
- [66] LÓPEZ-DONAIRE, M. L.; FERNANDEZ-GUTIÉRREZ, M.; PARRA-CÁCERES, J.; et al. A study on partially biodegradable microparticles as carries of active glycolipids. *Acta Biomaterialia*, v. 6, n. 4, p. 1360-1369, 2010.
- [67] SHAHANI, K.; SWAMINATHAN, S. K.; FREEMAN, D.; et al. Injectable sustained release microparticles of curcumin: a new concept for cancer chemoprevention. *Cancer Research*, v. 70, n. June 1, p. 4443-4452, 2010.
- [68] SATO, K.; UENO, S. Polymorphism in fats and oils. In: SHAHIDI, F. (ed.). *Bailey's Industrial oil and fat products*. New York: John Wiley, 2005. Cap. 3, p. 77-120.
- [69] LIMA, K. M.; RODRIGUES-JUNIOR, J. M. Poly-DL-lactide-co-glycolide microspheres as a controlled release antigen delivery system. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 32, n. 2, p.171-180, 1999.
- [70] MILLER, A. J.; OEHLER, D. D.; POUND, M. J. Delivery of ivermectin by injectable microspheres. *Journal of Economic Entomology*, v. 91, n. 3, p. 655-659, 1998.
- [71] MILLER, J. A. Controlled release products for control of ectoparasites of livestock. In: RATHBONE, M. J.; GURNY, R. *Controlled Release Veterinary Drug Delivery – biological and pharmaceutical considerations*, Amsterdam: Elsevier, 2000. Cap. 8, p. 229-248.
- [72] LENORA, M. de C. Copolímeros estatísticos biodegradáveis de (ϵ -caprolactona) e L,L-dilactídeo – Síntese, caracterização e propriedades. Tese de Doutorado, USP,2006.
- [73] ŻÓŁTOWSKA, K.SOBCZAK, M. OLEŹDZKA, E.NovelZinc-Catalytic Systems for Ring-OpeningPolymerizationof ϵ -Caprolactone.*Molecules*2015, 20, 2816-2827.
- [74] JAHNO, V. D.; LIGABUE, R.; EINLOFT, S.; SANTOS, L. A.; FERREIRA, M. R .W. F.; BOMBONATO-PRADO, K. F.; Síntese e caracterização do poli(ácido L-lático) e sua avaliação em culturas de osteoblastos humanos. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 15 a 19 de Novembro de 2006, Foz do Iguaçu, PR, Brasil.
- [75] CHEN, G.; KIM, H.; KIM, E. & YOON, J. Synthesis of high-molecular-weight poly(Llactic acid through the direct condensation polymerization of lactic acid in bulk state. *European polymer journal* v.42, p.468-472 (2006).

[76] YE, R. R.; WANG, Z. Y.; WANG, Q. F.; YANG, K.; LUO, S. H. Synthesis of biodegradable material poly(lactic acid-co-aspartic acid) via direct melt polycondensation and its characterization. *Journal of Applied Polymer Science* v.121, p.3662–3668 (2011).

[77] BENDIX, D. Chemical synthesis of polylactide and its copolymers for medical applications. *Polymer Degradation and Stability* v.59, p.129-135 (1998).

[78] RANCAN, F.; PAPAKOSTAS, D.; HADAM, S.; HACKBARTH, S.; DELAIR, T.; PRIMARD, C.; STERRY, B. W.; BLUME-PEYTAVI, U.; VOGT, A. Investigation of Polylactic Acid (PLA) Nanoparticles as Drug Delivery Systems for Local Dermatotherapy. *Pharmaceutical Research* v.26, p.2027-2036 (2009).

[79] VIEIRA, A.C. et al. Mechanical study of PLA–PCL fibers during in vitro degradation. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* v., p.451 – 460 (2011).

[80] CHESHMEDZHIEVA, D.; ANGELOVA, I.; ILIEVA, S.; GEORGIEV, G. S.; GALABOV, B. Initiation of ring-opening polymerization of lactide: The effect of metal alkoxide catalyst. *Computational and Theoretical Chemistry* v.995, p.8-16 (2012).

[81] MIAO, Q.; XU, D.; WANG, Z.; XU, L.; WANG, T.; WU, Y.; LOVEJOY, D. B.; KALINOVSKI, D. S.; RICHARDSON, D. R.; NIE, G.; ZHAO, Y. Amphiphilic hyperbranched co-polymer nanoparticles for the controlled delivery of anti-tumor agents. *Biomaterials* v.31, p.7364-7365 (2010).

[82] ANDREO-MARTÍNEZ, P.; GARCÍA-MARTÍNEZ, N.; DURÁN-DEL-AMOR, M. Advances on kinetics and thermodynamics of non-catalytic supercritical methanol transesterification of some vegetable oils to biodiesel. *Energy Conversion and Management*. 173, 187-196 (2018).

[83] NGUYEN, P.T.; NOHAIR, B.; MIGHRI, N.; KALIAGUINE, S. TBD-functionalized mesoporous silica: Synthesis and catalytic activity in corn oil transesterification. *Microporous and Mesoporous Materials*, Volume 180, 1 November 2013, Pages 293-300.

[84] PICCOLO, D.; VIANELLO, C.; LORENZETTI, A.; MASCHIO, G. Epoxidation of soybean oil enhanced by microwave radiation. *Chemical Engineering Journal*. Available online (2018).

[85] ASTRID JULIANA RINCÓN LASPRILLA. Síntese do poli-ácido láctico a partir do ácido láctico para aplicação biomédica; Dissertação (mestrado); Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia Química, 2011.

[86] ERBETTA, C.D. C. Synthesis and characterization of poly(lactide-co-glycolide) copolymer. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, vol 3, p. 208-225, 2012.

[87] LUNELLI, C.E. Síntese e caracterização de formas encapsuladas de heparina e derivados em poli(ácido láctico). Dissertação de Mestrado, UFPR. (2011).

- [88] CHEN, T. T.; CAI, T. J.; JIN, Q.; JI, J. Design and fabrication of functional polycaprolactone. *E-Polymers*, v. 15, n. 1, p. 3-13, Jan 2015.
- [89] ARBAOUI, A.; REDSHAW, C. Metal catalysts for epsilon-caprolactone polymerisation. *Polymer Chemistry*, v. 1, n. 6, p. 801-826, Aug 2010.
- [90] FECZKÓ, T.; TÓTH, J.; GYENIS, J. Comparison of the preparation of PLGA-BSA nano and microparticles by PVA, poloxamer and PVP. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2007.
- [91] CHAN, E. S. Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohyd Polym*, vol. 84, p. 1267-1275, 2011.
- [92] CORDEIRO, C. S.; SILVA, F. R.; WYPYCH, F.; RAMOS, L. P. Catalisadores heterogêneos para a produção de monoésteres graxos (biodiesel). *Quím. Nova* vol.34 no.3 São Paulo 2011.
- [93] SUKASEM, N.; MANOPHAN, S. The Development of Biodiesel Production from Vegetable Oils by Using Different Proportions of Lime Catalyst and Sodium Hydroxide. *Energy Procedia*.138, 991-997 (2017).
- [94] MELO, M. A. M. F. Avaliação das Propriedades de Óleos Vegetais visando a Produção de Biodiesel, 118 (2010).
- [95] ZIĘBA, A., DRELINKIEWICZ, A., CHMIELARZ, P., MATACHOWSKI, L. & STEJSKAL, J. Transesterification of triacetin with methanol on various solid acid catalysts: A role of catalyst properties. *Appl. Catal. A Gen.* **387**, 13–25 (2010).
- [96] SUAREZ, P. A. Z., MENEGHETTI, S. M. P., MENEGHETTI, M. R. & WOLF, C. R. Transformação de Triacilglicerídeos em Combustíveis, *Materiais Poliméricos e Insumos Química: Algumas Aplicações da Catálise na Olequímica.* *Quim. Nova* **30**, 667–676 (2007).
- [97] DEMELER, J.; KUTTLER, U.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. Adaptation and evaluation of three different in vitro tests for the detection of resistance to antihelmintics in gastro intestinal nematodes of cattle. *Veterinary Parasitology*, 70, 61-70, 2010.
- [98] MCLEOD, R.S. 1995. Cost of the major parasites to the Australian livestock industries. *International Journal for Parasitology*, 25: 1363-1367.
- [99] MOLENTO, M.B.; PRICHARD, R.K. Effect of multidrug resistance modulators on the activity of ivermectin and moxidectin against selected strains of *Haemonchus contortus* infective larvae. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 21, 117-121, 2001.

[100] MOLENTO, M.B.; WANG, G.T.; PRICHARD, R.K. Decrease ivermectin and moxidectin sensitivity in *Haemonchus contortus* selected with moxidectin over fourteen generations. *Veterinary Parasitology*, 86, 77-81, 1999.

[101] XU, M.; MOLENTO, M.; BLACKHALL, W.; RIBEIRO, P.; BEECH, R.; PRICHARD, R. Ivermectin resistance in nematodes may be caused by alteration of P-glycoprotein homolog. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 91, 327-335, 1998.