

Stacy Pinheiro Morgado

Preparação de adesivos cirúrgicos com ação farmacológica

Dissertação do Mestrado Integrado em Engenharia Química apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Stacy Pinheiro Morgado

Preparação de adesivos cirúrgicos com ação farmacológica

Dissertação submetida à Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de
Coimbra para atribuição do grau de Mestre em Engenharia Química

Supervisores:

Prof. Doutora Maria Margarida Lopes Figueiredo

Doutora Paula Cristina Nunes Ferreira Calvinho

Coimbra
2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Agradecimentos

A realização do presente trabalho resulta da orientação, apoio e incentivo de diversas pessoas que estiveram presentes ao longo de todo o meu percurso académico.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Doutora Paula Ferreira por toda a dedicação, apoio incondicional, pelos conhecimentos partilhados, pelos conselhos e pelo incentivo durante todo o trabalho.

Agradeço à Professora Doutora Maria Figueiredo, na qualidade de orientadora no presente trabalho.

Queria agradecer à Doutora Patrícia Alves por toda a simpatia, ajuda, partilha de conhecimentos e disponibilidade para a realização dos testes de hemocompatibilidade e de análise de RMN. À Doutora Patrícia Coimbra pelos ensinamentos no laboratório e conhecimento partilhado nesta fase final do trabalho. À Engenheira Maria João pela disponibilidade e rapidez na realização das análises de TGA e DSC. À Doutora Mara Braga pela disponibilidade de material. À Dona Dulce e ao Senhor José, pela sua constante disponibilidade e ajuda no laboratório.

Agradeço aos meus colegas de laboratório pela ajuda durante o trabalho laboratorial, por todo o companheirismo, conhecimentos partilhados e amizade criada, em especial à Cristiana Sousa, João Carapito, João Santos e Rita Vaz.

Aos meus amigos que durante todo o meu percurso académico me acompanharam e motivaram mesmo distantes, muito obrigada. De uma forma especial agradeço à Ana Côrte-Real, Ana Rita Varelas, Cátia Correia, Rita Ferreira, Tânia Alves e Tânia Cruz por toda a amizade e momentos partilhados.

Ao meu namorado, Rui Churro por toda a paciência, apoio incondicional, carinho, ajuda, compreensão pelas minhas ausências e por acreditar em mim.

Por último, à minha família por todo o apoio, carinho, compreensão e incentivo durante todo este percurso, em especial um enorme obrigada aos meus pais e à minha irmã Monique pela aceitação das minhas escolhas, pelo incentivo, pelos valores transmitidos, pelo esforço que possibilitou este caminho académico, pelo exemplo de vida e por todo o amor incondicional. Às minhas sobrinhas por todo o carinho e alegria transmitida.

A todos aqueles que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, obrigada.

Resumo

Os adesivos cirúrgicos são dispositivos médicos de valor indiscutível no encerramento de incisões e no processo de cicatrização de tecidos biológicos. Ao longo de várias décadas, estudos intensivos foram desenvolvidos para melhorar a eficácia dos adesivos cirúrgicos, em diferentes tecidos e condições de aplicação. As recentes evoluções tornaram-no um dispositivo revolucionário a utilizar em práticas cirúrgicas dada a rapidez de aplicação, a melhoria dos efeitos estéticos, o maior conforto oferecido ao paciente, a capacidade de atuar como sistema de libertação controlada de fármaco e a possibilidade de serem biodegradáveis, podendo ser absorvidos pelo organismo. No presente existem vários adesivos comercializados de origem natural e sintética, mas que ainda apresentam algumas limitações na sua aplicação, nomeadamente a libertação de subprodutos tóxicos, propriedades mecânicas inadequadas, risco de transmissão de doenças sanguíneas, risco de infeções, aplicação demorada, necessidade de remoção e degradação relativamente lenta. Uma solução para estas limitações centra-se no uso de polímeros biodegradáveis, biocompatíveis e fotoreticuláveis. Adesivos fotopolimerizáveis por meio da técnica de irradiação UV apresentam várias vantagens como: elevada velocidade de reação de cura, maior controlo das propriedades finais e controlo da temperatura de polimerização.

No presente trabalho procurou-se desenvolver adesivos cirúrgicos que ofereçam uma maior adesão às superfícies de aplicação, maior rapidez no processo de aplicação e de cicatrização, uma melhoria nos resultados estéticos, maior conforto para o paciente, ausência de reações adversas, que apresentem propriedades antibacterianas, sejam biocompatíveis e biodegradáveis, possibilitando a sua absorção pelo organismo e capacidade de operar como sistema de libertação controlada de compostos ativos. Desta forma desenvolveram-se adesivos a partir de polímeros de base natural, óleo de rícino (OR) e sintética, policaprolactona diol (PCL) modificados com os monómeros metacrilato de 2-isocianoetilo (IEMA) e Laromer[®] LR 9000 (LAR), tendo vindo a ser explorado o uso de copolímeros à base de prepolímeros de PCL e OR para a preparação de novos adesivos cirúrgicos. Após a produção destes materiais visou-se incorporar um fármaco na estrutura dos mesmos, tendo sido utilizado como fármaco modelo a ofloxacina.

Os adesivos produzidos foram caracterizados, para aferir várias propriedades que delimitam a sua aplicação na área biomédica, como a biocompatibilidade, capacidade de absorção de água, degradabilidade, adesão aos substratos, potencial hemolítico e

trombogénico, bem como o seu comportamento enquanto sistema de libertação controlada de fármaco. A caracterização dos adesivos produzidos permitiu aferir que todos apresentaram carácter ligeiramente hidrofílico, dependente do monómero funcional e da quantidade relativa utilizada. No teste de adesão *in vitro* todos os materiais à exceção do material PCL-IEMA(1:2) apresentaram uma capacidade de adesão ao substrato eficaz dada a aplicação. Os valores de energias de superfície de todos os materiais foram inferiores aos apresentados pelas superfícies aderentes (pele e sangue), revelando a capacidade de adesão dos materiais ao tecido. A análise termogravimétrica (TGA) permitiu verificar a estabilidade térmica dos materiais quando sujeitos a temperaturas elevadas e determinar a temperatura de degradação (T_d), que exibiu valores entre os 237,3 e os 298,0°C. Pela técnica de calorimetria diferencial de varrimento (DSC) avaliaram-se as temperaturas de transição vítrea (T_g) de cada material, que apresentaram valores negativos de -75,8 a -71,1°C. Toda esta análise térmica confirmou a estabilidade térmica dos materiais à temperatura fisiológica. Os materiais exibiram perdas de massa relativamente baixas no teste de degradação, tendo assumido uma perda máxima na ordem dos 11,7±0,1%, dependente do monómero funcional e da quantidade relativa utilizada, bem como da quantidade de OR aplicada na produção dos materiais. A técnica de microscopia eletrónica de varrimento (SEM) permitiu observar superfícies relativamente uniformes após a produção dos materiais e a formação de alguns poros após o processo de degradação. Todos os materiais exibiram carácter não-hemolítico e trombogénico, apresentando capacidade de promover a hemóstase e a coagulação do sangue. Os adesivos revelaram-se biocompatíveis pelo estudo de viabilidade celular, onde o copolímero OR-PCL-LAR(25/75) exibiu valores de viabilidade celular na ordem dos 102,0±0 e 109,0±2%. O estudo da atividade antibacteriana revelou que nenhum dos materiais exibiu potencial antibacteriano. No que respeita aos perfis de libertação de fármaco, o adesivo com 5% de fármaco incorporado revelou ser eficaz na libertação de fármaco por um período de 7 dias, tendo-se verificado a libertação de 52,0% do fármaco incorporado ao fim deste período.

Os adesivos cirúrgicos desenvolvidos revelaram propriedades adequadas face a aplicação, bem como capacidade de incorporação e uma libertação controlada de fármaco. A produção de copolímeros de base PCL e OR revelou-se uma estratégia viável para o melhoramento do processo de degradação, favorável para uma aplicação interna.

Abstract

Surgical adhesives are medical devices of indisputable value in the closure of incisions and in the cicatrization process of biological tissues. Throughout several decades, several intensive studies have been performed and developed in order to improve the effectiveness of surgical adhesives, in different type of tissues and conditions of application. Recent findings made them revolutionary surgical devices due to their ready-to-apply feature, reduction of aesthetic defects, comfort offered to the patient, potential to act as a controlled release vehicle for a drug and the possibility to be biodegradable, which can be absorbed by the organism. Nowadays there are several commercially-available adhesives of natural and synthetic source still presenting several limitations on their application/use, namely the release of toxic sub-products, inappropriate mechanical properties, risk of transmitted blood diseases, risk of infections, slow application, the need of further removal and relatively slow degradation. A possible solution of those limitations relies on the use of biodegradable, biocompatible and photocrosslinkable polymers which can enable the production of adhesives with improved biological properties. Photocrosslinkable adhesives by UV irradiation present several advantages such as higher cure reaction rate, greater control over its final properties and achievable control over polymerization temperature.

In this work were developed surgical adhesives which can provide improved adhesion to the application surfaces, faster application process and enhanced cicatrization process, improved aesthetic results, greater comfort to the patient, absence of adverse reactions, with antibacterial properties, which are biocompatible and biodegradable, allowing their absorption and or removal by the human body with the capability to act as a controlled release device vehicle for bioactive compounds. In this way, adhesives of natural basis, castor oil (OR) and of synthetic basis, polycaprolactone diol (PCL), modified with the monomers 2-isocyanatoethyl methacrylate (IEMA) and Laromer[®] LR 9000 (LAR) were produced, it has been explored the use of PCL and OR prepolymers-based copolymers for the preparation of new surgical adhesives. After the production of these materials a drug was incorporated into their structure, being used as a model-drug, ofloxacin.

The produced adhesives were characterized in order to assess several properties which limit their application in the biomedical field, such as biocompatibility, water absorption capacity, degradability, adhesion to substrates, non-haemolytic and thrombogenic character, required for this type of materials, as well as their behaviour as systems of controlled release of drugs.

The performed characterization of the produced adhesives allowed to assess that all presented a slightly hydrophilic behaviour, depended on the functional monomer and on its relative proportion. By the *in vitro* adhesion test all the materials, except PCL-IEMA(1:2), presented an effective adhesion to the substrate, concerning the desired application. The obtained values for surface energy of all the produced materials were inferior to the ones presented by the adherent surfaces (skin and blood), revealing the capacity of the materials to adhere to the human tissue. Thermal analysis by Thermogravimetric analysis (TGA), allowed to confirm the thermal stability of the materials when subjected to high temperatures and to determine their degradation temperature (T_d), which was between 237,3 and 298,0°C. By differential scanning calorimetry (DSC) glass transition temperatures (T_g) of each material were assessed, presenting negatives values between -75,8 to -71,1°C. Thermal analysis confirmed the thermal stability of all the produced adhesives at the biological temperature. The materials presented relatively low mass losses, by the degradation test, reaching a maximum loss at 11,7±0,1%, and it was found to be dependent on the functional monomer and its relative amount as well as on the used OR amount in the production of the materials. By Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis it was possible to observe relatively uniform surfaces after the production of the materials and the formation and appearance of several pores after the degradation process was initiated. All the materials presented a non-haemolytic and thrombogenic character, presenting capacity to promote haemostasis and blood coagulation. The produced adhesives were shown to be biocompatible, by the cell viability, in which the copolymer OR-PCL-LAR(25/75) showed values in the order of 102,0±0 and 109,0±2%. The antibacterial study revealed that none of the produced materials have bacterial potential. Concerning to the drug release profiles, the adhesive with 5% of incorporated drug was showed to be effective on the controlled release of drug over a 7 day period, having been reached a release of 52,0% of the incorporated drug at the end of that time period.

The developed surgical adhesives presented suitable properties to the desired application, as well as the potential to be incorporated with a drug and act as a vehicle for controlled release of a drug. The production of PCL and OR-based copolymers revealed to be an effective strategy for the improvement on the degradation process, favourable to a surgical application.



Índice

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract.....	v
Lista de Símbolos e Acrónimos.....	xi
Enquadramento e Motivação	1
1. Introdução.....	3
1.1. Técnicas Aplicadas no Encerramento de Feridas Incisas	4
1.1.1. Suturas	4
1.1.2. Agrafos	7
1.1.3. Fitas adesivas cirúrgicas	8
1.1.4. Adesivos cirúrgicos	8
1.2. Polímeros fotopolimerizáveis	23
1.2.1. Adesivos cirúrgicos à base de Policaprolactona diol	25
1.2.2. Adesivos cirúrgicos à base de Óleo de Rícino	28
1.3. Sistemas de Libertação controlada de fármacos	30
1.3.1. Ofloxacina	32
2. Materiais e Métodos	35
2.1. Materiais	35
2.2. Métodos de Síntese	36
2.2.1. Síntese de prepolímeros e copolímeros	36
2.2.2. Incorporação de fármaco	41
2.2.3. Reticulação fotoquímica.....	41
2.3. Métodos de Caracterização	44
2.3.1. Espectroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada	44
2.3.2. Ressonância magnética nuclear (RMN)	44
2.3.3. Avaliação da capacidade de absorção de água	45
2.3.4. Teste de adesão em folhas de gelatina.....	45
2.3.5. Determinação da energia de superfície por medição dos ângulos de contacto ..	46
2.3.6. Microscopia eletrónica de varrimento	47
2.3.7. Propriedades térmicas – TGA e DSC	47
2.3.8. Teste de degradação.....	48
2.3.9. Hemocompatibilidade.....	49

2.3.10.	Biocompatibilidade	51
2.3.11.	Estudo de libertação controlada de fármaco.....	53
3.	Resultados e Discussão.....	55
3.1.	Síntese de prepolímeros.....	55
3.2.	Análise por espectroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada e ressonância magnética nuclear (RMN)	59
3.3.	Avaliação da capacidade de absorção de água.....	67
3.4.	Teste de adesão em folhas de gelatina.....	69
3.5.	Determinação das energias de superfície por medição dos ângulos de contacto	71
3.6.	Propriedades térmicas – TGA e DSC.....	73
3.6.1.	Análise termogravimétrica.....	73
3.6.2.	Análise por calorimetria diferencial de varrimento	75
3.7.	Teste de degradação	76
3.8.	Hemocompatibilidade	80
3.8.1.	Determinação do índice hemolítico	80
3.8.2.	Avaliação da trombogenicidade.....	81
3.9.	Biocompatibilidade	83
3.9.1.	Estudo da viabilidade celular	83
3.9.2.	Estudo da atividade antibacteriana.....	84
3.10.	Estudo de libertação controlada de fármaco.....	85
4.	Conclusões.....	89
5.	Perspetivas futuras.....	93
6.	Referências Bibliográficas.....	95
	Anexos	103
	Anexo A. Suturas absorvíveis e não absorvíveis comercializadas	103
	Anexo B. Adesivos cirúrgicos comercializados	104
	Anexo C. Propriedades dos reagentes utilizados	106
	Anexo D. Representação esquemática do sistema experimental.....	107
	Anexo E. Regiões de absorção da radiação de infravermelhos em polímeros	107
	Anexo F. Determinação da curva de calibração para teste de hemocompatibilidade.....	108
	Anexo G. Estudo de libertação controlada de fármaco.....	108
	Anexo H. Teste de adesão em folhas de gelatina.....	112
	Anexo I. Propriedades térmicas	112

Índice de Figuras

Figura 1. Imagem do encerramento de uma incisão pós-cirúrgica com sutura (a) e com um adesivo de cianoacrilatos (b) (Adaptado de Silva <i>et al.</i> , 2011).	17
Figura 2. Representação de uma reação estabelecida entre um prepolímero e grupo amina de uma proteína, dando origem a uma ligação ureia (Adaptado de Duarte <i>et al.</i> , 2011).	18
Figura 3. Representação do processo de reticulação fotoquímica (Adaptado de Ferreira, 2007a).	24
Figura 4. Estrutura representativa do Irgacure [®] 2959 (Ir2959).	25
Figura 5. Estrutura representativa da policaprolactona diol.	26
Figura 6. Estrutura representativa do óleo de rícino.	29
Figura 7. Estrutura representativa da Ofloxacina.	33
Figura 8. Estrutura representativa do metacrilato de 2-isocianoetilo (IEMA).	37
Figura 9. Estrutura representativa do Laromer [®] LR 9000 (LAR).	37
Figura 10. Representação esquemática da reação da PCL com IEMA na proporção de 1 mol de PCL para 2 moles de IEMA, PCL-IEMA(1:2).	55
Figura 11. Representação esquemática da reação da PCL com LAR na proporção de 1 mol de PCL para 1 mol de LAR, PCL-LAR(1:1).	56
Figura 12. Representação esquemática da reação da OR com LAR na proporção de 1 mol de OR para 3 mol de LAR, OR-LAR(1:3).	57
Figura 13. Representação esquemática da reação da OR com IEMA na proporção de 1 mol de OR para 3 moles de IEMA, OR-IEMA(1:3).	58
Figura 14. Fotografias dos adesivos desenvolvidos após irradiação UV: a) PCL-IEMA(1:2); b) PCL-LAR(1:1); c) PCL-LAR(1:2); d) OR-PCL-LAR(25/75); e) OR-PCL-LAR(10/90); f) OR-PCL-IEMA(75/25); g) OR-PCL-IEMA(25/75); h) OR-PCL-IEMA(10/90); i) PCL-LAR(1:1) com fármaco incorporado.	59
Figura 15. Espectro de ATR-FTIR da PCL, do OR, do IEMA e do LAR.	60
Figura 16. Espectro de ATR-FTIR da PCL modificada com IEMA, PCL-IEMA(1:2) e com LAR, PCL-LAR(1:1) e PCL-LAR(1:2) e OR modificado com LAR, OR-LAR(1:3) e com IEMA, OR-IEMA(1:3).	61
Figura 17. Espectro de ¹ H-RMN da PCL (1); IEMA (2); PCL-IEMA(1:2) (3).	63

- Figura 18.** Espectro de ^1H -RMN da PCL (1); LAR (2); PCL-LAR(1:2) (3); PCL-LAR(1:1) (4). 64
- Figura 19.** Espectro de ^1H -RMN do OR (1); LAR (2); OR-LAR(1:3) (3). 65
- Figura 20.** Espectro de ^1H -RMN do OR (1); IEMA (2); OR-IEMA(1:3) (3). 66
- Figura 21.** Valores da capacidade de absorção de água (%) de todos os adesivos cirúrgicos desenvolvidos, após 6 semanas de incubação em atmosfera saturada. 68
- Figura 22.** Valores de força máxima (N) registados para rutura ou separação das folhas de gelatina. 70
- Figura 23.** Curvas termogravimétricas dos adesivos PCL-IEMA(1:2) (—); PCL-LAR(1:1) (—); PCL-LAR(1:2) (—) com um fluxo de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. 74
- Figura 24.** Curvas termogravimétricas dos adesivos OR-PCL-LAR(25/75) (—); OR-PCL-LAR(10/90) (—); OR-PCL-IEMA(75/25) (—); OR-PCL-IEMA(25/75) (—); OR-PCL-IEMA(10/90) (—) com um fluxo de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. 74
- Figura 25.** Perda de massa dos materiais (%) após 6 semanas de incubação numa solução de PBS. 76
- Figura 26.** Fotografias de SEM (ampliação 500x e 5000x) da superfície dos adesivos de PCL-IEMA(1:2); PCL-LAR(1:1); PCL-LAR(1:2); OR-PCL-LAR(25/75); OR-PCL-LAR(10/90); OR-PCL-IEMA(75/25); OR-PCL-LAR(25/75); OR-PCL-IEMA(10/90). 79
- Figura 27.** Representação gráfica dos valores de índice hemolítico dos adesivos por contato direto  e indireto . 81
- Figura 28.** Valores médios de massa de trombos (g) formados após 40 minutos de contato do sangue com as superfícies adesivas e com a superfície de controlo. 82
- Figura 29.** Avaliação da atividade celular depois de 24 e 72 horas em contato com os adesivos. K-, controlo negativo; K+, controlo positivo. 84
- Figura 30.** Imagens representativas dos adesivos após contato direto com a bactéria *S. aureus*. A- PCL-LAR(1:2); B-PCL-LAR(1:1); C-OR-PCL-IEMA(25/75); D- OR-PCL-LAR(25/75); E- OR-PCL-IEMA(10/90); F- OR-PCL-LAR(10/90); G- OR-PCL-IEMA(75/25). 85
- Figura 31.** Perfis de libertação de ofloxacina a partir do adesivo PCL-LAR(1:1) com 1(—●—) e 5% (—▲—) de fármaco incorporado. 87

Lista de Símbolos e Acrónimos

ΔH_m	Entalpia de fusão (kJ/mol)
m_{cg}	Massa média de coágulo formado em cada amostra (g)
m_{cn}	Massa média de coágulo formado no controlo negativo (branco) (g)
m_{cp}	Massa média de coágulo formado no controlo positivo (vidro) (g)
$m_{s,i}$	Massa seca inicial (g)
$m_{s,f}$	Massa seca final (g)
Θ	Ângulo de contato estático
γ_s	Energia de superfície (mN/m)
γ_s^D	Componente dispersiva da energia de superfície (mN/m)
γ_s^P	Componente polar da energia de superfície (mN/m)
T_c	Temperatura de cristalização (°C)
T_d	Temperatura de degradação (°C)
T_g	Temperatura de transição vítrea (°C)
T_m	Temperatura de fusão (°C)
W_h	Peso hidratado (g)
W_s	Peso seco (g)
ATR-FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (Espectroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada por transformada de Fourier)
CFU	<i>Colony Forming Unit</i>
CL	ϵ -caprolactona
DMEM-F12	<i>Dulbecco's modified Eagle's médium</i> (Meio Eagle modificado por <i>Dulbecco</i>)
DMTA	<i>Dynamic-mechanical thermal analysis</i> (Análise térmica dinâmico-mecânica)
DO	Densidade ótica
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i> (calorimetria diferencial de varrimento)
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i> (Ácido etilendiaminotetracético)
FBS	<i>Fetal bovine serum</i> (soro fetal de bovino)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GRF	Gelatina reticulada com resorcinol- formaldeído
GRFG	Gelatina reticulada com glutaraldeído
Hb	Hemoglobina
hFib	Células de fibroblastos humanos
HR	Humidade relativa
HSA	<i>Human Serum Albumin</i> (Albumina de soro humano)
IEMA	Metacrilato de 2- isocianoetilo
IPD	Diisocianato de isoforon
Ir2959	Irgacure [®] 2959
ISSO	<i>International Organization for Standardization</i>
IV	Infravermelho
LAR	Laromer [®] LR 9000
LCR	Líquido cefalorraquidiano

MTS	<i>3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium</i>
NHDF	<i>Normal human dermal fibroblastos adult</i> (células criopreservadas de fibroblastos humanos)
OR	Óleo de rícino
PBS	<i>Phosphate Buffer Solution</i>
PCL	Policaprolactona diol
PDS	Poli(diaxanona)
PEG	Polietileno glicol
PEO	Poli(óxido de etileno)
PGA	Poli(ácido glicólico)
PGSA	<i>Poly(glycerol sebacate acrylate)</i>
PLA	Poli(ácido láctico)
PLLA	Poli(ácido láctico-L)
PLGA	Poli(ácido láctico-co- glicólico)
PMAA	Poli(ácido metacrílico)
PP	Polipropileno
PS	<i>Pseudomonas</i>
PU	Poliuretana
PVA	Poli(álcool vinílico)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ROP	<i>Ring Opening Polymerization</i> (Polimerização por Abertura de Anel)
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i> (Microscopia Eletrônica de Varrimento)
SLC	Sistema de Libertação Controlada
TDI	Diisocianato de tolueno
TGA	Análise termogravimétrica
UBI	Universidade da Beira Interior
USD	<i>US Dollar</i>
UV	Ultravioleta

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Enquadramento e Motivação

O avanço da ciência médica tem o objetivo de melhorar a qualidade de vida da população, na procura de soluções que permitam práticas mais simples, eficazes, rápidas, confortáveis para o técnico de saúde e para o paciente, bem como economicamente viáveis. No âmbito das práticas cirúrgicas, tem aumentado o interesse por novos biomateriais, técnicas de encerramento de incisões e por sistemas com a capacidade de libertar fármaco de forma controlada, incluindo os adesivos cirúrgicos. O interesse por estes sistemas tem vindo a crescer nos últimos tempos por parte dos investigadores, visto ser uma solução revolucionária dos métodos convencionais aplicados na cirurgia.

A necessidade de técnicas alternativas para o encerramento de incisões reside nas lacunas associadas aos produtos atualmente comercializados, como suturas e agrafos. Entre estas destacam-se o potencial de induzirem inflamações, a necessidade de remoção pós-operatória, o processo de cicatrização relativamente longo e a incapacidade de adesão em condições desfavoráveis. Fatores como estes influenciam a prática cirúrgica e proporcionam uma recuperação mais desconfortável ao paciente.

Os adesivos cirúrgicos visam aproximar duas extremidades de tecido e auxiliar o processo de cicatrização, sem danificar o tecido circundante. Estes podem ser classificados como materiais naturais, sintéticos ou biomiméticos, possibilitando a oferta de uma extensa gama de adesivos com distintas propriedades que se adequam a diferentes aplicações. Os materiais fotoreticuláveis por meio da técnica de irradiação UV têm despertado maior interesse dada a facilidade de produzir novos biomateriais com diferentes propriedades, através de um processo rápido e não invasivo (Deng *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2011).

Atualmente, não é possível encontrar uma solução que se adeque com uniformidade a todos os tipos de incisões, sendo necessário usar a técnica que melhor responde aos requisitos exigidos, ainda dentro das suas limitações. O presente trabalho tem como finalidade desenvolver e explorar o potencial dos adesivos cirúrgicos enquanto técnica de encerramento de feridas incisivas e sistema de libertação controlada de fármacos, recorrendo a materiais poliméricos de origem natural, como óleo de rícino e sintética, policaprolactona diol, cujo potencial de biocompatibilidade e biodegradabilidade é de grande interesse, possibilitando a sua aplicação numa extensa gama de tratamentos.

O presente trabalho encontra-se organizado em cinco capítulos principais. No **Capítulo 1, Introdução**, é feito um enquadramento geral do tema, apresentando diversos conceitos subjacentes em torno das diferentes técnicas de encerramento de incisões, nomeadamente adesivos cirúrgicos e uma revisão bibliográfica dos principais trabalhos desenvolvidos em torno de polímeros fotoreticuláveis, em particular à base de policaprolactona diol e de óleo de rícino. Este capítulo apresenta ainda uma análise sumariada dos sistemas de libertação controlada de fármaco.

No **Capítulo 2**, intitulado *Materiais e Métodos*, são apresentados e explicados de forma detalhada os materiais utilizados ao longo deste trabalho, bem como os métodos de síntese realizados para a produção dos prepolímeros e copolímeros, da incorporação de fármaco nos adesivos e da reticulação fotoquímica dos materiais. Descrevem-se ainda as técnicas utilizadas para a caracterização dos diversos materiais sintetizados: análise por espectroscopia de infravermelho com reflexão atenuada (ATR-FTIR) e por ressonância magnética nuclear (RMN), avaliação da capacidade de absorção de água, teste de adesão em folhas de gelatina, determinação das energias de superfície por ângulos de contato, análise da superfície dos materiais por microscopia eletrónica de varrimento, avaliação das propriedades térmicas (TGA e DSC), estudo de degradação, teste de hemocompatibilidade por medição do índice hemolítico e trombogenicidade, estudo da biocompatibilidade dos materiais por meio de uma avaliação da citotoxicidade, determinação da atividade antibacteriana e por fim, um estudo preliminar de libertação controlada de fármaco.

No **Capítulo 3, Resultados e Discussão**, são apresentados e discutidos os resultados obtidos ao longo do processo de caracterização dos adesivos sintetizados, bem como conclusões parciais de cada grupo de resultados.

No **Capítulo 4, Conclusões**, são descritas as conclusões principais reunidas ao longo do trabalho e por fim, no **Capítulo 5, Perspetivas Futuras**, apresentam-se algumas sugestões para o desenvolvimento de trabalho futuro, bem como para o melhorar o potencial dos adesivos cirúrgicos desenvolvidos.

1. Introdução

Atualmente, o princípio de funcionamento em torno do encerramento de feridas incisais é idêntico, na sua essência, ao praticado pelos egípcios entre 3000-2500 A.C., onde suturas cirúrgicas já eram usadas no tratamento de ferimentos no crânio, como relatado num manuscrito copiado no século XVII A.C. (Feldman e Goodrich, 1999; Ferreira *et al.*, 2012; Lazzeri *et al.*, 2012). Este documento foi denominado de Papiro Cirúrgico de Edwin Smith, em homenagem a Edwin Smith, que no século XIX encontrou manuscritos antigos e traduziu-os (Lazzeri *et al.*, 2012).

No século VI A.C., Sushruta, um cirurgião indiano, relatou diversos procedimentos cirúrgicos, em particular o tratamento de lesões faciais, como reconstrução nasal total e operação a cataratas (Lazzeri *et al.*, 2012). Na Roma Antiga, Celsus (25 A.C a 50 D.C.) escreveu uma das mais relevantes fontes de cirurgia antiga, relatando procedimentos eficazes, como suturas à base de lã fina para o tratamento de perdas de tecido (Ferreira, 2007a; Lazzeri *et al.*, 2012; Moulin, 1988). Desde então, que as técnicas de sutura e agrafos foram assumidas como dos métodos mais utilizados para o encerramento de feridas incisais, acompanhadas de inúmeras alterações, em particular na sua composição.

De forma mais discreta, a aplicação de adesivos data de há vários séculos, onde a sua composição inicial consistia numa cola à base de gelatina adquirida de cartilagens, tendões e ossos de animais. Esta composição sofreu uma evolução para materiais à base de cianoacrilatos, desenvolvidos em 1950 e também de fibrina (Donkerwolcke *et al.*, 1998). Ambos são atualmente aplicados na prática cirúrgica, apesar de apresentarem algumas limitações inerentes, como problemas associados à citotoxicidade dos materiais no caso dos cianoacrilatos e risco de transmissão de doenças no caso da fibrina (Bouten *et al.*, 2014; Ferreira, 2007a).

O interesse pelo desenvolvimento de novas técnicas de encerramento de feridas incisais é uma constante, face à necessidade de responder ao aumento do número de cirurgias hoje em dia praticadas e à procura de soluções viáveis para este fim. Segundo dados publicados, o mercado referente a aplicações de encerramento de feridas incisais alcançou uma receita de 10,8 mil milhões USD em 2014 e a previsão para 2018 é de aproximadamente 14 mil milhões USD (Driscoll, 2015).

1.1. Técnicas Aplicadas no Encerramento de Feridas Incisas

Como resultado da extensa investigação que tem vindo a ser realizada ao longo dos séculos na área biomédica, existe atualmente no mercado uma extensa oferta de diferentes materiais, com distintas propriedades que podem ser aplicados nas mais diversas formas, sem comprometer a segurança dos médicos e pacientes. A diversidade de técnicas de encerramento de incisões e respetivos materiais obriga o cirurgião a uma avaliação prévia de vários fatores, como o local de aplicação do material, a extensão da ferida ou incisão, bem como da idade e estado de saúde do paciente, com a finalidade de otimizar o processo de recuperação do mesmo (Dunn e Phillips, 2005; Sanders e Nagatomi, 2014; Tajirian e Goldberg, 2010).

Nas próximas seções analisam-se as diferentes técnicas de encerramento de incisões presentes no mercado e a respetiva diversidade de materiais, bem como os que se encontram atualmente em desenvolvimento para melhoramento do protocolo cirúrgico e processo de cicatrização.

1.1.1. Sutures

A utilização de suturas para o encerramento de feridas remonta aos tempos da civilização egípcia. A sua aplicação visa melhorar e auxiliar o processo de cicatrização, por aproximação das extremidades da ferida (Dunn e Phillips, 2005). As primeiras suturas produzidas eram de origem natural, nomeadamente linho e posteriormente seda e *catgut*¹ que foram posteriormente substituídas por suturas de origem sintética. A primeira sutura de origem sintética foi produzida em 1931 à base de poli(álcool vinílico) (PVA), demonstrando assim a evolução da medicina e dos materiais até então (Chu *et al.*, 1997; Suzuki e Ikada, 2012).

A aplicação de suturas no encerramento de feridas é uma das técnicas mais utilizadas até ao presente, consequência da vasta gama de materiais das quais podem ser constituídas, possibilitando a sua utilização em diferentes tecidos (Barros *et al.*, 2011; Bouten *et al.*, 2014; Suzuki e Ikada, 2012; Tajirian e Goldberg, 2010; Vainionpää *et al.*, 1989). A uma sutura ideal é exigida resistência à tração que não deve ser maior que a do tecido, fácil manuseamento, esterilidade, flexibilidade e elasticidade, para ter capacidade de retomar à sua forma original (Dunn, 2003; Dunn e Phillips, 2005; Suzuki e Ikada, 2012). Para além de obedecer a estes

¹ *Catgut*: cabo produzido a partir de fibrina natural removida das paredes do intestino de animais, como ovelha e cabra.

Introdução

requisitos, a seleção da sutura exige um prévio conhecimento de fatores como o tecido no qual irá ser aplicada, a idade do paciente, a existência de infeções e outras complicações inerentes ao paciente, para que seja a mais adequada face às necessidades do mesmo (Suzuki e Ikada, 2012; Tajirian e Goldberg, 2010; Vainionpää *et al.*, 1989).

Como qualquer outro material, independentemente da sua origem, as suturas apresentam algumas lacunas, nomeadamente a necessidade de anestesia, remoção pós-cirúrgica, um processo de cicatrização relativamente longo, uma composição e estrutura que pode originar infeções, a utilização de agulhas durante a sua aplicação que podem originar danos no tecido circundante (Dunn, 2003; Dunn e Phillips, 2005; Edlich *et al.*, 1974; Suzuki e Ikada, 2012), bem como dificultar a tarefa de controlo de perda de sangue ou ar no caso de cirurgias no fígado e/ou pulmão (Sanders e Nagatomi, 2014).

A classificação das suturas pode ser realizada por meio da origem do seu material constituinte podendo ser classificadas como naturais e sintéticas, segundo a sua permanência no organismo como reabsorvíveis e não reabsorvíveis e no que diz respeito ao número de fios que as constituem, podendo neste caso serem categorizadas como monofilamentadas e multifilamentadas (Dunn e Phillips, 2005; Suzuki e Ikada, 2012).

As suturas classificadas como absorvíveis caracterizam-se pela perda significativa da sua força mecânica num período de 60 dias, sendo adequada para feridas cujo processo de cicatrização é realizado durante este período de tempo. Estas suturas podem ter origem natural ou sintética, onde as primeiras se degradam por digestão enzimática que leva à rutura do fio de sutura. Por seu lado, as suturas absorvíveis sintéticas são degradadas por hidrólise, processo no qual a água penetra gradualmente nos fios que a constituem, levando à quebra da estrutura da cadeia polimérica. O facto de não ser necessária a sua remoção pós-operatória é claramente uma mais-valia eliminando a necessidade de uma segunda intervenção e possíveis complicações adicionais (Dunn e Phillips, 2005; Ferreira, 2007a).

As primeiras suturas absorvíveis de origem natural eram compostas por *catgut*, que atualmente já não é utilizado, face à sua origem, pois podem induzir na transmissão de doenças entre espécies diferentes (Tajirian e Goldberg, 2010). No que respeita a fios de origem sintética e absorvível incluem-se o Dexon[®] constituído por poli(ácido glicólico) (PGA) e posteriormente o Vicryl[®] constituído por um copolímero de ácido láctico e ácido glicólico, o poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) (Barros *et al.*, 2011). Foram estes

produtos que em 1970 revolucionaram os materiais de sutura usados até então, visto existir um maior controle no seu processo de fabrico e de degradação (Chu *et al.*, 1997).

Em contrapartida, as suturas absorvíveis também apresentam algumas limitações, que podem comprometer a sua eficácia no decorrer da cicatrização. Um exemplo é o fato de um simples contato entre a sutura e alguma humidade durante o seu manuseamento, ainda antes da aplicação no tecido, poder proporcionar a degradação precoce do material. Também a condição geral do paciente no qual é aplicada a sutura, como por exemplo a ocorrência de febre ou qualquer infecção, pode originar um rápido declínio na sua resistência à tração resultante da degradação acelerada da sutura. Todas estas situações podem levar a uma redução na resistência perante possíveis esforços até que a cicatrização seja finalizada (Dunn e Phillips, 2005; Ferreira, 2007a).

Em oposição às suturas já descritas, as não absorvíveis têm a capacidade de manter a sua resistência à tração por um período superior a 60 dias, mas é necessária a sua remoção pós-operatória. Estas são igualmente classificadas segundo a sua origem, como naturais ou sintéticas. As suturas não absorvíveis de origem natural são normalmente constituídas por seda, fibras de algodão e linho (Edlich *et al.*, 1974). As de origem sintética, por seu lado, surgiram em 1940 sob a forma de fios de *nylon* e são até hoje as suturas não absorvíveis e sintéticas mais amplamente utilizadas (Bouten *et al.*, 2014). Posteriormente, em 1962, foram desenvolvidas fibras de polipropileno (PP), como por exemplo o produto Prolene[®] (Barros *et al.*, 2011; Bouten *et al.*, 2014; Ferreira, 2007a), também ainda disponível no mercado.

As suturas classificadas como monofilamentadas são compostas por um único fio, apresentando assim uma maior fragilidade na sua estrutura, exigindo um manuseamento cuidado para evitar a sua rutura. Estas suturas são adequadas para cirurgia vascular, uma vez que o tecido oferece uma menor resistência à sua passagem. Já as suturas multifilamentadas são constituídas por mais do que um fio, o que lhes oferece uma maior flexibilidade, resistência à tração e elasticidade. Contudo por vezes é necessário proceder ao revestimento das mesmas de forma a facilitar a sua passagem pelos tecidos (Dunn e Phillips, 2005; Ferreira, 2007a).

Em suma, é possível verificar que somente no âmbito das suturas há uma enorme oferta de materiais, que se diferenciam nas suas propriedades mecânicas, físicas, químicas e biológicas. No Anexo A, Tabela A.1 e Tabela A.2 apresenta-se uma lista das suturas absorvíveis e não-absorvíveis, disponíveis no mercado.

1.1.2. Agrafos

A aplicação de agrafos, nomeadamente de origem biológica, remonta à civilização Hindu, onde mandíbulas de insetos, na sua maioria de uma espécie de “formigas soldado”, a *Eciton burckell*, eram usadas com o intuito de aproximar as extremidades de um ferimento sendo, o corpo do inseto removido após a aplicação (Gottrup e Leaper, 2004; Singer *et al.*, 2011).

O primeiro dispositivo para aplicação de agrafos cirúrgicos metálicos foi projetado em 1908 por Victor Fischer. Contudo o maior marco aconteceu em 1950, na União Soviética, onde foram desenvolvidos diversos agrafos, a partir dos quais evoluíram os que são atualmente utilizados (Singer *et al.*, 2011).

Os agrafos são uma técnica de encerramento de incisões adequado para feridas de grandes dimensões, desde que não se localizem na face, na mão ou numa outra zona do corpo na qual os nervos e tendões estejam próximos da superfície. Este método é usualmente aplicado em incisões no couro cabeludo e no dorso, e no encerramento de feridas na zona abdominal e torácica (Dunn e Phillips, 2005; Singer *et al.*, 2011). A remoção dos agrafos depende da eficácia do processo de cicatrização e do local onde foram aplicados, variando entre 7 a 14 dias após a sua aplicação (Dunn e Phillips, 2005).

As vantagens intrínsecas a este método centram-se na rapidez e eficácia de aplicação, no custo reduzido e na baixa taxa de reações adversas e infeções (Dunn, 2003; Dunn e Phillips, 2005; Singer *et al.*, 2011). No âmbito das suas limitações, este método exige o uso de um dispositivo adequado na fase de aplicação e remoção, a sua implementação pode interferir com algumas técnicas de imagem, como ressonância magnética e tomografia computadorizada. Outras desvantagens incluem a forte possibilidade de originar danos no tecido circundante (Sanders e Nagatomi, 2014), bem como o processo de remoção, que se releva ser extremamente doloroso para o paciente (Singer *et al.*, 2011). A aplicação deste material exige um máximo cuidado por parte do cirurgião, nomeadamente quando as feridas são irregulares, pois a aproximação e o alinhamento indevido dos tecidos da ferida pode desencadear um processo de cicatrização ineficaz ou cicatrizes permanentes (Ferreira, 2007a; Singer *et al.*, 2011).

Com o intuito de explorar o potencial deste método, têm sido desenvolvidos agrafos biodegradáveis, principalmente a partir do copolímero PLGA, pois quando aplicado na pele

degrada-se por ação de hidrólise, sendo lentamente absorvido pelo organismo, numa questão de meses (Innocutis, 2015). O Inorb[®] (*Incise Surgical Inc.*) é um exemplo deste tipo de material. Este oferece inúmeras vantagens quando em comparação com os agrafos metálicos, dada a reduzida manipulação da ferida e um maior conforto do paciente. A aplicação deste tipo de agrafos é realizada internamente por baixo da pele, permitindo obter uma cicatriz mais discreta (Inorb, 2015a; Inorb, 2015b) e como tal melhores resultados estéticos.

1.1.3. Fitas adesivas cirúrgicas

Face às lacunas apresentadas pelos métodos de suturas e agrafos, é essencial o desenvolvimento de outras técnicas alternativas. Assim, com o desenvolvimento da medicina e dos materiais, surgiram as fitas adesivas cirúrgicas que visam aproximar a extremidade das lacerações ou auxiliar na reparação de feridas incisais, desde que as extremidades se encontrem próximas (Dunn e Phillips, 2005; Singer *et al.*, 2011).

Este método é adequado para ferimentos de menor dimensão, pouco profundos e localizados em zonas secas, visto que a presença de humidade leva a uma redução na sua capacidade de adesão. Zonas que estejam sujeitas a constantes movimentos e zonas pilosas também limitam a aplicação de fitas adesivas (Dunn, 2003; Dunn e Phillips, 2005).

Em contrapartida, as fitas adesivas revelam uma menor taxa de infeções, consequência de uma reduzida reação por parte dos tecidos quando em contato com este material. O processo de aplicação deste material é rápido e indolor, de baixo custo, não exige anestesia, não é necessário qualquer tipo de instrumento auxiliar, como agulhas ou seringas. As fitas adesivas podem ser mantidas durante longos períodos de tempo, sem deixar qualquer tipo de marca ou originar efeitos nocivos na pele. Posto isto, é possível classificar as fitas adesivas como um material multifuncional, uma vez que tem a capacidade de fechar feridas e complementar o encerramento das suturas e agrafos (Dunn, 2003; Dunn e Phillips, 2005; Singer *et al.*, 2011).

1.1.4. Adesivos cirúrgicos

Durante vários séculos o encerramento de feridas ou incisões incidiu em técnicas como suturas ou agrafos, que atualmente ainda apresentam limitações, como o risco associado a infeções e a necessidade de remoção pós-operatória. Perante esta situação, diversos estudos foram desenvolvidos onde áreas como a engenharia, a biologia e a medicina cooperaram com a finalidade de desenvolver novas técnicas de encerramento de feridas incisais, bem como

Introdução

novos materiais, com a finalidade de solucionar as limitações apresentadas pelas técnicas de incisão tradicionais (Cooper e Falb, 1968; Ferreira *et al.*, 2011, 2012; Silva *et al.*, 2011).

O aparecimento dos adesivos cirúrgicos é exemplo de uma nova técnica, que veio oferecer uma alternativa menos invasiva aos procedimentos cirúrgicos de encerramento de feridas aplicados até então. Este fato despertou o interesse dos cirurgiões, considerando os inúmeros benefícios que este dispositivo apresenta (Cooper e Falb, 1968; Silva *et al.*, 2011).

Este método visa reaproximar duas extremidades do corpo que foram alvo de uma incisão ou ferimento, auxiliando assim o corpo humano no processo de encerramento e de cicatrização (Sanders e Nagatomi, 2014). Em comparação com outros métodos, os adesivos cirúrgicos possibilitam uma rápida aplicação (Cooper e Falb, 1968), reduzindo o tempo de cirurgia. Proporcionam também uma recuperação mais cômoda do paciente, visto não ser necessária a sua remoção pós-operatória. Desta forma, é evitada a deslocação do paciente a uma unidade de saúde (Ferreira *et al.*, 2012), situação altamente conveniente para pacientes com mobilidade reduzida. A aplicação de adesivos cirúrgicos não requer o uso de anestesia e apresenta um risco reduzido de infecções. Uma outra característica que diferencia favoravelmente este método são os resultados estéticos obtidos após a sua remoção ou degradação (Ferreira *et al.*, 2012). Este método também apresenta a possibilidade de ser usado como sistema de libertação controlada de fármacos ou até mesmo como veículo de transporte para fatores de crescimento (Ferreira *et al.*, 2011). Este método apresenta, contudo, uma força de tensão reduzida (Ferreira, 2007a).

São inúmeros os avanços que se têm feito sentir para colmatar as limitações que este método ainda apresenta, com o intuito de aumentar a sua eficácia e áreas de aplicação no corpo humano, sob diversas condições, mediante a utilização de materiais com distintas propriedades (Ferreira *et al.*, 2012).

Uma vez que, os adesivos cirúrgicos se destinam a aplicações no corpo humano, este método é alvo de certas restrições. Assim, durante o processo de desenvolvimento é essencial ter em atenção aspetos físico-químicos, como fenómenos que acontecem na interface tecido-adesivo, propriedades do local onde é aplicado e a alteração da sua estrutura como consequência da sua degradação. Relativamente a aspetos biológicos, realçam-se o seu potencial de toxicidade e a interferência nos processos regenerativos nos limites da superfície de adesão. As propriedades mecânicas e a capacidade de adesão do material devem ser apropriadas para uma recuperação eficiente (Ferreira, 2007a).

Logo, independentemente da origem dos materiais que compõem os adesivos, durante a sua síntese é essencial atingir um equilíbrio entre os seguintes requisitos (Lipatova, 1986; Ferreira, 2007a):

- a) O adesivo deve ter a capacidade de manter as extremidades de uma incisão juntas e de auxiliar o processo de cicatrização e regeneração dos tecidos;
- b) O adesivo não deve produzir qualquer efeito alérgico ou cancerígeno;
- c) Os adesivos, os seus componentes iniciais e os produtos de degradação não devem causar qualquer efeito tóxico ao organismo ou nos tecidos que se encontram em seu redor;
- d) No caso dos adesivos biodegradáveis, os respetivos produtos de biodegradação devem ser eliminados pelo organismo, sem que haja acumulação dos mesmos em órgãos ou tecidos;
- e) As propriedades físico-químicas do adesivo devem cumprir os requisitos de adesão que este deve apresentar face ao seu local de aplicação;
- f) O adesivo deve ser de fácil e eficaz aplicação, garantindo igualmente o seu carácter hemostático.

Características como a biocompatibilidade do adesivo e dos seus produtos de degradação, a rapidez e eficiência do processo de polimerização de modo a não causar qualquer tipo de danos nos tecidos envolventes e a capacidade de adesão em superfícies húmidas, devem ser igualmente consideradas (Donkerwolcke *et al.*, 1998; Lipatova, 1986).

No que se refere à sua composição, os adesivos podem ser classificados segundo três categorias distintas: naturais, sintéticos e biomiméticos. Muitas são as diferenças existentes entre as categorias de adesivos, o que possibilita aos cirurgiões selecionar o adesivo mais adequado para cada processo cirúrgico. Nas seções seguintes é possível analisar algumas destas diferenças.

Adesivos cirúrgicos naturais

Os adesivos à base de polímeros naturais definem o início da história dos adesivos cirúrgicos, oferecendo uma alternativa mais biocompatível para a composição deste tipo de

Introdução

materiais (Duarte *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2011). A ampla oferta de polímeros na natureza, extraídos de plantas e/ou animais, possibilitam a obtenção de materiais com baixos custos associados, não-tóxicos e biodegradáveis (Silva *et al.*, 2011; Suzuki e Ikada, 2012). É fundamental referenciar que a biodegradabilidade é uma das propriedades que mais valoriza os adesivos de origem natural quando comparados com os de origem sintética (Sanders e Nagatomi, 2014).

Polímeros naturais, como fibrina, colagénio e polissacarídeos apresentam as características anteriormente referidas, mas dadas algumas limitações, em particular ao nível da solubilidade, de resistência mecânica (Dash e Konkimalla, 2012; Ferreira *et al.*, 2012; Suzuki e Ikada, 2012), da possibilidade de transmissão de vírus e reações de hipersensibilidade têm conduzido à sua substituição por polímeros sintéticos, mas não na sua totalidade (Sanders e Nagatomi, 2014). Devido ao seu caráter hemostático, os adesivos de origem natural, nomeadamente de fibrina, são largamente aplicados juntamente com outras técnicas de encerramento de incisões, como o exemplo das suturas (Ferreira *et al.*, 2012; Sanders e Nagatomi, 2014).

Fibrina

A primeira aplicação de fibrina remonta a 1909, tendo sido utilizada para auxiliar a cicatrização de feridas (Jackson, 2001). Já em 1915 foi relatado por Lippencott o uso de fibrina como agente hemostático, numa cirurgia cerebral (Spotnitz *et al.*, 2005). Mas a aplicação deste material como adesivo, somente ocorreu em 1944, para auxiliar a adesão de enxertos de pele em soldados que tinham sofrido queimaduras graves (Jackson, 2001).

Os adesivos fibrínicos resultam da combinação de agentes de coagulação do sangue, a trombina, fibrinogénio e o fator XIII. É também possível identificar a presença de um agente antifibrinolítico (aprotinina) e cloreto de cálcio na sua composição (Ferreira *et al.*, 2012; Jackson, 2001; Spotnitz *et al.*, 2005). Todos estes compostos que constituem o adesivo possibilitam que este seja capaz de imitar as fases finais de coagulação do sangue (Sanders e Nagatomi, 2014).

O processo de formação de fibrina dá-se com a ativação do fibrinogénio e do fator XIII, numa reação catalisada pela trombina na presença de iões cálcio, que origina a conversão do fibrinogénio em fibrina (Ferreira, 2007a; Silva *et al.*, 2011). Consequentemente, a fibrina é polimerizada formando um coágulo de fibrina estável, posteriormente reticulado pelo fator

XIII ativado, que lhe confere uma maior capacidade de resistência à dissolução (Ferreira, 2007a; Silva *et al.*, 2011).

Os adesivos fibrínicos são amplamente usados em aplicações clínicas, nomeadamente em especialidades como cirurgia torácica, reconstrutiva, dentária, oftalmológica, cardiovascular e neurocirúrgica, bem como em combinação com outras técnicas de encerramento de feridas como suturas e agrafos. Esta ampla aplicação é devida à sua capacidade de reduzir a perda de sangue, melhorar o tempo de hemostasia e não originar qualquer tipo de resposta inflamatória no tecido (Jackson, 2001; Mizrahi *et al.*, 2011; Spotnitz *et al.*, 2005).

O fato dos componentes usados na sua produção serem de origem natural confere-lhes uma maior biocompatibilidade e biodegradação (Jackson, 2001; Spotnitz *et al.*, 2005). Em contrapartida, estes componentes são extraídos de um dador, requerendo um maior controlo de segurança devido ao risco de transmissão de doenças (Jackson, 2001; Silva *et al.*, 2011). É igualmente possível realizar a extração a partir do plasma do próprio paciente, caso este reúna as condições adequadas. É contudo essencial ter presente que este processo envolve a recolha de uma unidade de sangue, o que significa que quando extraído do próprio paciente, poderá existir a necessidade de realizar uma transfusão de sangue para repor o sangue doado. Consequentemente, a cirurgia só poderá decorrer dois dias após a recolha de plasma (Silva *et al.*, 2011).

A preparação de adesivos de fibrina encontra-se então limitada à oferta e revela-se mais dispendioso quando comparado com outros materiais sintéticos, como adesivos de cianoacrilatos (Sanders e Nagatomi, 2014). Estes fatores limitam a sua aplicação em situações de emergência (Ferreira *et al.*, 2012; Spotnitz *et al.*, 2005).

No presente é possível encontrar diversos adesivos fibrínicos no mercado, como o Beriplast-P[®] (Aventis, 2015), o EVICEL[®] Fibrin Sealant (Human) (Ehticon, 2015) e o Artiss (Baxter). Este último é utilizado em ferimentos causados por queimaduras (Sanders e Nagatomi, 2014).

Gelatina

A gelatina é um polímero natural, solúvel em água que deriva do colagénio, nomeadamente de colagénio desnaturado (Bouten *et al.*, 2014; Cohen *et al.*, 2013; Rose *et al.*, 2014). A sua origem natural confere-lhe excelentes propriedades, como biodegradabilidade e

Introdução

biocompatibilidade, tornando-o promissor para aplicações nas áreas farmacêutica e biomédica (Cohen *et al.*, 2013; Rose *et al.*, 2014). Nestas incluem-se a produção de microesferas usadas na libertação controlada de fármaco (Cohen *et al.*, 2013; Dinarvandi *et al.*, 2005), de adesivos e de hidrogéis e selantes (Cohen *et al.*, 2013). Os adesivos à base de gelatina revelaram ser não-tóxicos (Dinarvandi *et al.*, 2005) e ter baixos custos associados (Vuocolo *et al.*, 2011). A abundância na natureza dos componentes que a constituem e a possibilidade de obter materiais flexíveis, valoriza igualmente o potencial da gelatina como material para o encerramento de incisões.

A gelatina exibe uma estrutura primária que possibilita a sua modulação, de modo a alcançar propriedades químicas e mecânicas que permitam amplificar as suas áreas de aplicação (Rose *et al.*, 2014; Weber *et al.*, 1999). Em particular, quando este material é utilizado em bioadesivos é essencial a sua modificação química por ação de um agente de reticulação (Cohen *et al.*, 2013).

A utilização de adesivos à base de gelatina em aplicações médicas centra-se num adesivo composto pela mistura de gelatina reticulada com resorcinol-formaldeído (GRF) (Bouten *et al.*, 2014) eficazmente aplicado em cirurgias cardiovasculares, dissecação da aorta (Kirsch *et al.*, 2002) e torácicas (Duarte *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2011). Contudo, segundo um estudo realizado, a aplicação deste material em pacientes no tratamento de incisões originou complicações a longo prazo, consequência da presença do agente de reticulação, formaldeído, que exibe um potencial de citotoxicidade (Vuocolo *et al.*, 2011). Esta limitação conduziu a modificações, nomeadamente na substituição do agente de reticulação já utilizado, por glutaraldeído (Silva *et al.*, 2011).

Como referido anteriormente, os adesivos de GRF são aplicados em diversos tipos de cirurgias, mas os adesivos de gelatina reticulados com glutaraldeído (GRFG), cuja composição se centra na mistura de duas soluções: uma solução que contem gelatina e resorcinol e uma outra que tem formaldeído e glutaraldeído (Bouten *et al.*, 2014), tem-se relevado eficaz em cirurgias pulmonares, devido à sua capacidade de adesão ao tecido (Bouten *et al.*, 2014; Kodama *et al.*, 1997). No entanto, como no caso dos adesivos reticulados com formaldeído, os adesivos GRFG revelaram igualmente algum potencial de citotoxicidade (Peng *et al.*, 2012). Uma outra limitação intrínseca a este tipo de material é a necessidade de os aquecer até 45°C antes da aplicação (Bouten *et al.*, 2014).

O Floseal[®] é um produto existente no mercado composto por uma suspensão de partículas de gelatina e trombina (Duarte *et al.*, 2011). Este é eficazmente aplicado como complemento hemostático, nomeadamente quando outros materiais como suturas não são totalmente eficientes (Duarte *et al.*, 2011; Echave *et al.*, 2014).

Nos últimos anos tem-se verificado um aumento no interesse por fontes alternativas para a obtenção da gelatina, devido a questões religiosas e a surtos associados a carne bovina, uma vez que maioria da gelatina utilizada provém de pele e ossos de espécies mamíferas, nomeadamente suínos e bovinos. A produção de gelatina a partir de espécies marinhas é uma das alternativas, onde escamas e barbatanas de peixe são utilizadas. A possibilidade de encontrar inúmeras espécies distintas no meio marinho é uma mais-valia, pois possibilita o desenvolvimento de materiais com diferentes propriedades. Porém, face à sua produção limitada, o preço associado à gelatina produzida a partir de espécies marinhas, não a torna competitiva relativamente à gelatina tradicional (Gómez-Guillén *et al.*, 2011). Um material que tem sido alvo de estudo para uso na área biomédica, é composto por gelatina e poli(L-ácido láctico) (PLLA), sendo a gelatina obtida a partir da pele de peixe-gato (Gómez-Guillén *et al.*, 2011).

Polissacarídeos

Polímeros classificados como polissacarídeos provêm de diferentes fontes, desde vegetal, animal e microbiana (Namazi *et al.*, 2012). A sua composição química variável confere-lhe distintas propriedades, que se tornam favoráveis na produção de novos materiais para os mais diversos fins, sem pôr em causa a sua biocompatibilidade e biodegradabilidade (Bouten *et al.*, 2014; Namazi *et al.*, 2012). Dadas as suas propriedades, os polissacarídeos são definidos como potenciais materiais para aplicações farmacológicas. Um exemplo é a sua utilização na prevenção de infeções bacterianas no pós-operatório (uma vez que apresentam propriedades antimicrobianas), na cicatrização de feridas e em sistemas de libertação controlada de fármacos (Bouten *et al.*, 2014).

Existem atualmente vários adesivos cirúrgicos no mercado produzidos a partir de polissacarídeos, nomeadamente de quitosano e dextrano. Os materiais à base de quitosano apresentam capacidade de adesão a diferentes tecidos e carácter hemostático (Bouten *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2010; Mati-Baouche *et al.*, 2014). O produto Hem Con[®] é exemplo de um adesivo cirúrgico, que ao entrar em contato com o sangue opera como primeira barreira para o controlo da hemorragia, ao proporcionar uma aceleração no processo de coagulação do

Introdução

sangue. Este fenómeno deve-se à presença de quitosano na sua composição, que apresenta carga positiva e atrai as células vermelhas do sangue (Bouten *et al.*, 2014; HemCon, 2015). Uma nova versão deste produto designa-se por Chitoflex[®] constituído igualmente por quitosano (Mati-Baouche *et al.*, 2014). Já o polissacarídeo dextrano é aplicado em adesivos de diferentes formas, mas na sua maioria juntamente com poli(etileno glicol) (PEG) ou quitosano para a formação de hidrogéis (Bouten *et al.*, 2014). Segundo uma investigação desenvolvida por Bhatia e os seus colaboradores, na qual a capacidade de adesão de um adesivo à base de dextrano e PEG foi estudada no encerramento de incisões na córnea de um coelho, demonstrou o potencial deste produto para aplicação em cirurgias oftalmológicas (Bhatia *et al.*, 2007).

No Anexo B, Tabela B.1 apresenta-se de forma sintética os adesivos cirúrgicos de origem natural presentes no mercado e respetiva composição e aplicação.

Adesivos cirúrgicos sintéticos

A história dos adesivos cirúrgicos teve início em materiais de origem natural, mas ao longo das últimas décadas o interesse por adesivos sintéticos tem vindo a aumentar. Uma das razões consiste na possibilidade de ajustar e controlar algumas propriedades do polímero utilizado, o que permite a produção de materiais com uma maior uniformidade e num processo mais viável e reproduzível (Ferreira *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2011; Suzuki e Ikada, 2012). Adicionalmente, estes materiais visam solucionar limitações ao nível de resistência mecânica apresentada pelos materiais de origem natural e melhorar a sua eficácia enquanto adesivo (Sanders e Nagatomi, 2014).

Os adesivos sintéticos aplicados atualmente no encerramento de incisões são maioritariamente de base cianoacrilatos, poliuretanas, poliésteres e PEG (Sanders e Nagatomi, 2014), e serão descritos nas seções seguintes.

Cianoacrilatos

A primeira referência aos cianoacrilatos data de 1949 por meio de Ardis, mas a sua aplicação clínica foi reconhecida por Coover somente no fim da década de 50 (Bouten *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2012; Suzuki e Ikada, 2012). Na década seguinte foi então descoberto o seu potencial no processo de encerramento de feridas (Bouten *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2011). O grande interesse por materiais à base de cianoacrilatos centra-se na sua elevada capacidade de adesão às superfícies e a rápida reação de polimerização. A sua capacidade de adesão

resulta da interação estabelecida entre os grupos polares ciano e éster presentes nos monómeros de cianoacrilatos com os grupos amina e carboxílico existentes em proteínas na superfície do tecido humano (Silva *et al.*, 2011).

Os cianoacrilatos sofrem polimerização através de uma reação exotérmica quando em contato com quantidades reduzidas de substâncias aniônicas, como o exemplo da água ou do sangue, à temperatura ambiente (Ferreira *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2011; Suzuki e Ikada, 2012). No decorrer da reação há libertação de grandes quantidades de calor, que se relacionam inversamente com o tamanho da cadeia (Bouten *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2012). Isto é, quanto maior for o grupo alquilo, menor será a quantidade de calor libertado. Paralelamente, grupos laterais de tamanho superior diminuirão a taxa de degradação destes compostos, diminuindo, também o seu caráter tóxico (Ferreira *et al.*, 2012). O processo de degradação dos cianoacrilatos em meio aquoso origina produtos de degradação como formaldeído e cianoacetato de alquilo, cuja respetiva acumulação pode provocar reações citotóxicas (Bouten *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2012; Suzuki e Ikada, 2012). Outras limitações que caracterizam materiais à base de cianoacrilatos centram-se no risco de transmissão de doenças por meio de derivados sanguíneos (Ferreira, 2007a).

Apesar destas contra-indicações, vários monómeros de cianoacrilatos têm sido alvo de investigação, como o exemplo o metilo, etilo, isobutilo e octilo-cianoacrilato (Bouten *et al.*, 2014; Suzuki e Ikada, 2012). Estes têm sido amplamente usados em superfícies externas no encerramento de feridas ou lacerações, nomeadamente em situações de emergência, como adesivo para cirurgias plásticas e oftalmológicas e controlo de sangramento de varizes (Ferreira *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2011; Suzuki e Ikada, 2012).

A aplicação de adesivos à base de cianoacrilatos revela excelentes resultados estéticos após regeneração quando comparados com o método tradicional das suturas (Silva *et al.*, 2011). Na Figura 1 são claras as diferenças estéticas após a remoção de suturas (a) e utilização de adesivos de cianoacrilatos (b) (Rushbrook *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2011). Adicionalmente são vantajosos para aplicações em crianças, visto não ser necessário o uso de agulhas no processo de aplicação ou anestesia (Duarte *et al.*, 2011). A sua capacidade de resistência à água permite descartar a aplicação dos comuns pensos para feridas (Ferreira *et al.*, 2012). Este tipo de produtos apresenta uma maior flexibilidade e quando comparado com outras técnicas de encerramento de incisões, em particular suturas, apresenta-se como um produto de fácil aplicação e menos doloroso (Suzuki e Ikada, 2012).

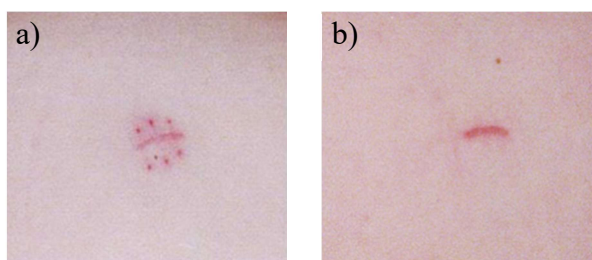


Figura 1. Imagem do encerramento de uma incisão pós-cirúrgica com sutura (a) e com um adesivo de cianoacrilatos (b) (Adaptado de Silva *et al.*, 2011).

Atualmente é possível encontrar no mercado produtos como o Indermil[®], Histoacryl[®], Histoacryl[®] Blue (Bouten *et al.*, 2014) e LiquidBand[®] (Sanders e Nagatomi, 2014) constituídos por n-butil-2-cianoacrilato. Segundo um estudo que envolveu todos estes produtos e o uso de suturas numa mesma aplicação, todos os produtos apresentaram uma maior eficácia e rapidez quando comparados com o desempenho das suturas. Mas estes apresentam uma maior fragilidade após a polimerização, originando a rutura do material ainda antes do processo de cicatrização ser finalizado (Sanders e Nagatomi, 2014).

O interesse por adesivos à base de 2-octil-2-cianoacrilato resulta desta limitação, dando origem a produtos como o Dermabond[®], amplamente usado por cirurgiões no encerramento de lacerações e ferimentos, bem como barreira física para a penetração microbiana (Bouten *et al.*, 2014; Duarte *et al.*, 2011; Rushbrook *et al.*, 2014; Suzuki e Ikada, 2012). Segundo Suzuki e Ikada, este material oferece excelentes resultados a nível de adesão e flexibilidade em comparação com outros adesivos à base de cianoacrilatos (Suzuki e Ikada, 2012).

Atualmente encontra-se em curso uma investigação a nível da viscosidade dos cianoacrilatos, com o objetivo de facilitar a aplicação dos adesivos, bem como melhorar a flexibilidade e a resistência destes materiais, por meio da criação de adesivos à base de octil e butil-cianoacrilato, juntamente com outros polímeros. Em cooperação com esta investigação tem-se procurado reduzir os efeitos tóxicos resultantes do processo de degradação (Sanders e Nagatomi, 2014).

Poliuretanas

Materiais sintéticos à base de poliuretanas (PU) estão presentes nas mais diversas aplicações como revestimentos, tintas e espumas para colchões (Fay, 2005; Ferreira, 2007a). Desde o seu desenvolvimento em 1937 por Otto Bayer, foi possível ampliar as áreas de interesse, nomeadamente para aplicações biomédicas, na composição de diversos dispositivos, tais como: bioadesivos, válvulas cardíacas, implantes mamários, próteses vasculares e

cateteres (Fay, 2005; Ferreira, 2007a; Ferreira *et al.*, 2012). O potencial deste tipo de polímeros em aplicações biomédicas como bioadesivos justifica-se por um conjunto de vantagens que lhe são inerentes. Particularmente, a presença de grupos isocianato livres na sua estrutura, que ao reagir com grupos amina presentes no tecido humano, possibilita a adesão entre os tecidos, por formação de ligações ureia (Figura 2) (Duarte *et al.*, 2011).

O crescente interesse por parte dos investigadores neste tipo de material deve-se à possibilidade de integrarem outros grupos funcionais, como: éter, éster, ureia, entre outros que juntamente com as excelentes propriedades mecânicas, a estabilidade térmica e biodegradabilidade que apresentam, possibilita a produção de materiais com as mais diversas propriedades (Bouten *et al.*, 2014; Duarte *et al.*, 2011; Ferreira, 2007a).

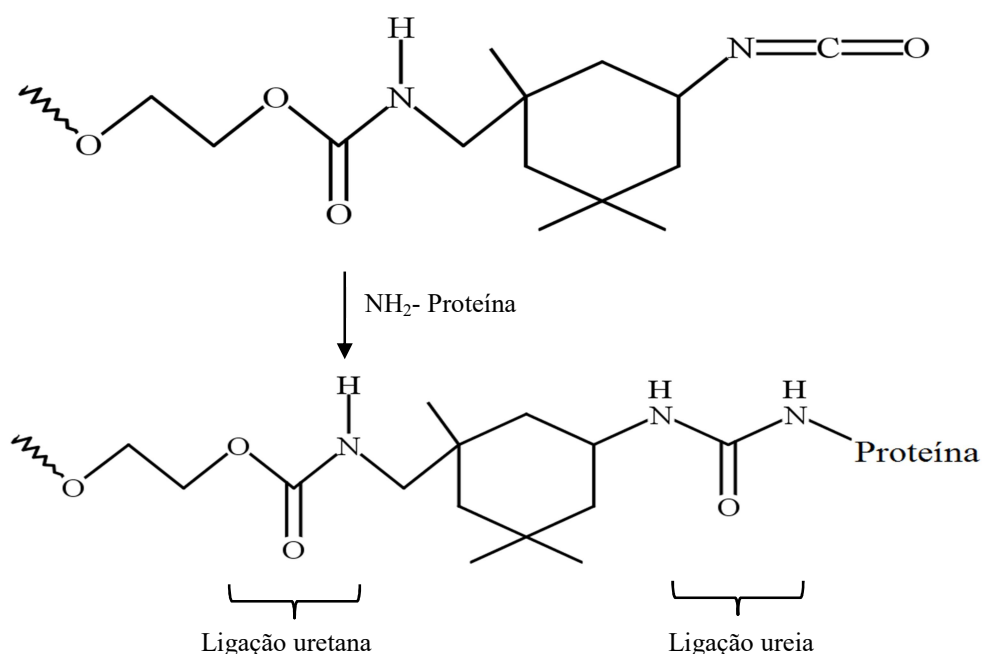


Figura 2. Representação de uma reação estabelecida entre um prepolímero e grupo amina de uma proteína, dando origem a uma ligação ureia (Adaptado de Duarte *et al.*, 2011).

Presentemente é possível encontrar no mercado adesivos cirúrgicos como o TissuGlu[®] à base de uma poliuretana derivada de lisina, não-tóxico e reabsorvível e amplamente utilizado no encerramento de lacerações abdominais (Duarte *et al.*, 2011; Walgenbach *et al.*, 2011). Este produto é uma mais-valia na prevenção de seroma, que consiste na acumulação de fluido sob a pele, que frequentemente ocorre após cirurgias abdominais (Bouten *et al.*, 2014). Os resultados obtidos na aplicação de TissuGlu[®] em cirurgias de abdominoplastia realizadas em cães vieram confirmar a redução de líquidos após um período de 5 dias (Bouten *et al.*, 2014).

Introdução

A sua aplicação em pacientes humanos foi igualmente realizada, tendo sido verificada a eficácia e segurança deste material (Walgenbach *et al.*, 2011).

Sylys[®] é um exemplo de um outro produto desenvolvido pela Cohera, que consiste num prepolímero sintético à base de PEG, no qual é combinado a uretana com silano (Stam *et al.*, 2014). Este caracteriza-se pela sua elasticidade e capacidade de adesão ao tecido intestinal que o torna um complemento eficaz às técnicas de encerramento de anastomose intestinal (Bouten *et al.*, 2014; Stam *et al.*, 2014), contribuindo para a redução de vazamento anastomótico. A sua degradação ocorre por hidrólise, sendo que os seus produtos revelam-se não-tóxicos e são reabsorvidos pelo organismo (Stam *et al.*, 2014).

Hidrogéis de polietileno glicol

Uma outra classe de adesivos sintéticos é à base de PEG, polímero este que apresenta na sua estrutura dois átomos de carbono hidrogenados, ligações éter e grupos hidroxilo terminais (Bouten *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2012). O PEG apresenta um conjunto de propriedades que potenciam a sua utilização na medicina, como o facto de ser biocompatível, biodegradável (Bouten *et al.*, 2014), solúvel em soluções aquosas e solventes orgânicos, não-tóxico (Ferreira *et al.*, 2012), não contem material de origem humana ou animal, garantindo uma maior segurança e apresenta boa elasticidade e ductilidade (Bouten *et al.*, 2014).

Todas estas características impulsionam a utilização de PEG no processo de cicatrização, mas como complemento às técnicas de encerramento padrão (Ferreira *et al.*, 2012; Sanders e Nagatomi, 2014). No mercado existe um conjunto de selantes à base de PEG, que se diferenciam segundo a sua composição e o fim para o qual são utilizados (Sanders e Nagatomi, 2014). Os produtos FocalSeal[®] (Genzyme Biosurgery) e ProGel[™] (Neomend) são exemplos de selantes usados para reduzir fugas de ar após cirurgias pulmonares, cuja composição é distinta (Sanders e Nagatomi, 2014). O FocalSeal[®] é composto por um copolímero tribloco ABA, onde a solução de PEG é modificada por segmentos de poli(ácido láctico) (PLA) e poli(carbonato de trimetileno) originando PEG-co-poli(ácido láctico) ou PEG-co-poli(carbonato trimetileno) (Bouten *et al.*, 2014). O processo de aplicação de FocalSeal[®] envolve a aplicação do produto no tecido, que posteriormente é alvo de uma fonte de luz para fotopolimerizar as ligações duplas e ativar assim a adesão ao tecido (Duarte *et al.*, 2011; Sanders e Nagatomi, 2014). Estudos realizados no sentido de testar a eficácia do FocalSeal[®] revelaram um controlo de cerca de 92% das fugas de ar, ao contrário dos 39% de

controlo alcançado no grupo de pacientes nos quais foram aplicadas suturas com o mesmo fim (Sanders e Nagatomi, 2014).

Por outro lado, o ProGel™ é composto por PEG e uma solução de albumina de soro humano (*Human Serum Albumin*, HSA), que quando misturados formam rapidamente um hidrogel flexível (FDA, 2015; Sanders e Nagatomi, 2014). A utilização deste produto revela-se menos complexa quando comparado com o processo de aplicação do FocalSeal®, uma vez que se recorre a uma seringa dupla para a inserir o material no local de incisão seguindo-se a reticulação química *in situ* (Sanders e Nagatomi, 2014). Foram igualmente realizados estudos a este produto com o intuito de avaliar a sua capacidade de controlo de fugas de ar após cirurgia, como realizado com o FocalSeal®. Os resultados obtidos mostraram-se muito favoráveis, na medida em que aplicação do ProGel™ num grupo de pacientes originou a redução de um dia de internamento e um controlo de 77% de fugas de ar, quando comparado com um grupo de pacientes de controlo nos quais foram aplicadas suturas, em que apenas 16% das fugas foram controlados (Sanders e Nagatomi, 2014).

O DuraSeal™ (Covidien) é um produto usado em neurocirurgia com a finalidade de reduzir fugas de líquido cefalorraquidiano (LCR), comum neste tipo de cirurgias. Tal como os produtos anteriormente descritos, este é aplicado como complemento às suturas (Bouten *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2012). Estudos revelaram um controlo destas fugas na ordem dos 100% quando aplicado o produto DuraSeal™, enquanto as suturas apresentaram uma percentagem na ordem dos 64% (Sanders e Nagatomi, 2014). Este produto é constituído por duas soluções, uma primeira solução de *pentaerythritol poly(ethylene glycol) ether tetrasuccinimidyl glutarate* e uma segunda de trisina, aplicadas em simultâneo no tecido, formando de imediato um gel. Este é degradado por hidrólise num período de 4 a 8 semanas e os produtos resultantes são eliminados pelo organismo por meio de depuração renal (Bouten *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2012; Sanders e Nagatomi, 2014).

Um outro produto presente no mercado designa-se por CoSeal® (Cohesion Technologies) composto por *tetra-NHS-derivatized PEG* e *tetra-thiol-derivatized PEG* (Bouten *et al.*, 2014; Sanders e Nagatomi, 2014). Este é usado como complemento à hemostasia em cirurgia torácica e cardiovascular, inibindo a hemorragia na zona de aplicação da sutura (Bouten *et al.*, 2014; CoSeal®, 2015; Sanders e Nagatomi, 2014). O CoSeal® é aplicado no tecido com o auxílio de um aplicador, onde as soluções que o compõem se misturam, dando origem a um hidrogel em apenas 3 segundos (Bouten *et al.*, 2014; CoSeal®, 2015), não sendo necessário o recurso a fotoativação (Ferreira *et al.*, 2012). A degradação

Introdução

deste material ocorre igualmente por hidrólise, sendo mais rápida quando comparada com a do produto DuraSeal (Bouten *et al.*, 2014). Um problema inerente aos selantes de base PEG é o inchaço do hidrogel, que neste produto pode alcançar valores elevados, nomeadamente cerca de quatro vezes o seu tamanho original (Bouten *et al.*, 2014).

Recentemente foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) a utilização do selante ReSure[®] em tratamento ocular, nomeadamente no encerramento de incisões na córnea após cirurgia de catarata (ReSure, 2015; Sanders e Nagatomi, 2014), por ser uma alternativa mais eficaz e segura no encerramento de feridas em comparação com as suturas neste tipo de cirurgia. Este é composto por um hidrogel à base de PEG e trisina (Sanders e Nagatomi, 2014). O ReSure[®] tem a facilidade de ser aplicado em 20 segundos, protegendo as incisões logo após a cirurgia, principalmente quando estas requerem maiores cuidados, não sendo necessária a sua remoção (ReSure, 2015).

Na generalidade, os selantes de base PEG exibem algumas lacunas, como dificuldade de manuseamento, necessidade de armazenamento individual dos componentes que constituem o hidrogel e possibilidade de entupimento da seringa durante a sua utilização (Bouten *et al.*, 2014). O hidrogel formado apresenta uma coesão muito fraca, que aproxima este material de um gel e não de um filme e o elevado grau de inchaço do hidrogel pode limitar a sua aplicação, por poder comprometer a integridade dos tecidos circundantes (Bouten *et al.*, 2014).

Dendrímeros

A aplicação de dendrímeros tem criado interesse por parte de investigadores na procura de melhores propriedades mecânicas, que visam substituir na sua totalidade o uso de técnicas de encerramento padrão (Sanders e Nagatomi, 2014). Os dendrímeros são macromoléculas altamente ramificadas de baixa polidispersividade, cuja estrutura apresenta um número significativo de grupos funcionais (Grinstaff, 2007; Sanders e Nagatomi, 2014), favorável para a sua aplicação enquanto adesivo (Bouten *et al.*, 2014; Sanders e Nagatomi, 2014).

Nos últimos anos têm-se desenvolvido estudos com a finalidade de explorar o uso de adesivos de base dendrímeros na reparação de feridas na córnea e em cirurgias de cataratas. Um estudo em particular revelou o uso de um dendrímero fotoreticulável para vedar vazamentos de fluídos em incisões realizadas no olho (Duarte *et al.*, 2011). Adesivos à base de dendrímeros ainda não estão disponíveis no mercado, mas o seu futuro apresenta ser promissor (Sanders e Nagatomi, 2014).

No Anexo B, Tabela B.2 apresenta-se os adesivos cirúrgicos de origem sintética presentes no mercado e respetiva composição e aplicação.

Adesivos biomiméticos

A maioria dos adesivos existentes no mercado apresenta uma adesão relativamente baixa quando aplicados em superfícies húmidas, uma vez que presença de água enfraquece as forças adesivas na interface, como forças de *van der Waals* (Duarte *et al.*, 2011; Langer *et al.*, 2007). Adicionalmente, a necessidade de materiais poliméricos biodegradáveis de maior resistência (Mahdavi *et al.*, 2008) e de um tempo de degradação adequado ao tempo de cicatrização (Langer *et al.*, 2007), também se faz sentir nos adesivos usados atualmente. Assim sendo é evidente a procura de adesivos poliméricos biodegradáveis e resistentes, nomeadamente em ambientes húmidos (Duarte *et al.*, 2011; Langer *et al.*, 2007).

Perante esta necessidade, alguns investigadores recorreram a espécies existentes na natureza como modelo base, para potencializar os materiais já utilizados em adesivos à base de cianoacrilatos, fibrina, entre outros (Duarte *et al.*, 2011; Langer *et al.*, 2007). Estes procuraram recriar a capacidade de fixação das lagartas em superfícies verticais (Langer *et al.*, 2007), bem como de espécies marinhas, como mexilhões, algas, estrelas-do-mar, entre outros em meio aquático (Duarte *et al.*, 2011). Mantém-se no entanto, a necessidade de cumprir requisitos essenciais, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades mecânicas e garantir a adesão em superfícies húmidas, sem causar qualquer efeito adverso no tecido humano (Langer *et al.*, 2007). Surgiram assim os adesivos biomiméticos.

A maioria dos estudos desenvolvidos em torno de adesivos biomiméticos têm-se centrado na recriação das excelentes propriedades adesivas exibidas pelos mexilhões em meio marinho e pelas lagartas em meio terrestre (Duarte *et al.*, 2011; Langer *et al.*, 2007).

Ao observar os mexilhões na natureza é visível a produção e secreção de um conjunto de fios proteicos cuja extremidade é adesiva, possibilitando uma aderência firme nas superfícies subaquáticas. O ambiente marinho no qual estão inseridos apresenta condições que poderiam impossibilitar uma permanência prolongada nas superfícies nas quais estão fixados, como a salinidade, ondas, turbulência e humidade. As proteínas adesivas dos mexilhões também possibilitam a adesão a outras superfícies, como vidro, metal, plástico e substâncias corporais. Neste último tipo de superfície têm-se desenvolvido vários estudos, em particular em pele de porco e em diversos tipos de células de mamíferos (Duarte *et al.*, 2011).

Os materiais, nos quais foi possível obter propriedades com base nas propriedades adesivas dos mexilhões têm revelado um grande potencial como bioadesivos resistentes à água, biodegradáveis e isentos de qualquer tipo de respostas inflamatórias e de citotoxicidade (Duarte *et al.*, 2011; Ninan *et al.*, 2003).

Segundo um estudo desenvolvido por Mahdavi e os seus colaboradores foi possível produzir um adesivo sintético à base de *poly(glycerol sebacate acrylate)* (PGSA), biocompatível com reticulação por ligações covalentes, biodegradável e com elevada elasticidade. Cujas propriedades foram ajustadas de modo a recriar a capacidade das lagartas em aderirem a superfícies verticais. Este material pode ser aplicado como complemento ou substituto de técnicas de encerramento padrão, como suturas e agafos, e pensos para feridas hemostáticas (Mahdavi *et al.*, 2008).

1.2. Polímeros fotopolimerizáveis

A produção de materiais fotopolimerizáveis por meio da técnica de irradiação UV tem despertado um maior interesse por parte dos investigadores, dadas as vantagens que estes apresentam: possibilidade de ausência de solvente, controlo da temperatura de polimerização e da elasticidade, elevada velocidade de reação de cura à temperatura ambiente e estabilidade em armazenamento (Ferreira *et al.*, 2011).

A estrutura dos monómeros ou oligómeros apresenta grupos funcionais que podem sofrer reações por meio da incidência de radiação, dando origem à sua reticulação. Este processo decorre pela presença de moléculas de um fotoiniciador, que ao absorverem a luz UV sofrem excitação, dando origem a radicais livres, que posteriormente dão início ao mecanismo de polimerização dos monómeros. O processo de reticulação pode igualmente suceder por meio de interações entre os radicais e os grupos funcionais presentes na estrutura do polímero, originando ligações intermoleculares entre as cadeias que compõem o mesmo (Ferreira *et al.*, 2011) (Figura 3).

A eficiência da reação de polimerização depende essencialmente dos monómeros, do comprimento de onda do feixe de luz e do fotoiniciador. A natureza química deste último composto tem uma influência relevante em diferentes parâmetros da reação, como a velocidade de reação, a resistência à luz, a estabilidade dos materiais durante o seu armazenamento e sensibilidade espectral (comprimento de onda à qual ocorre a reação) (Ferreira *et al.*, 2011).

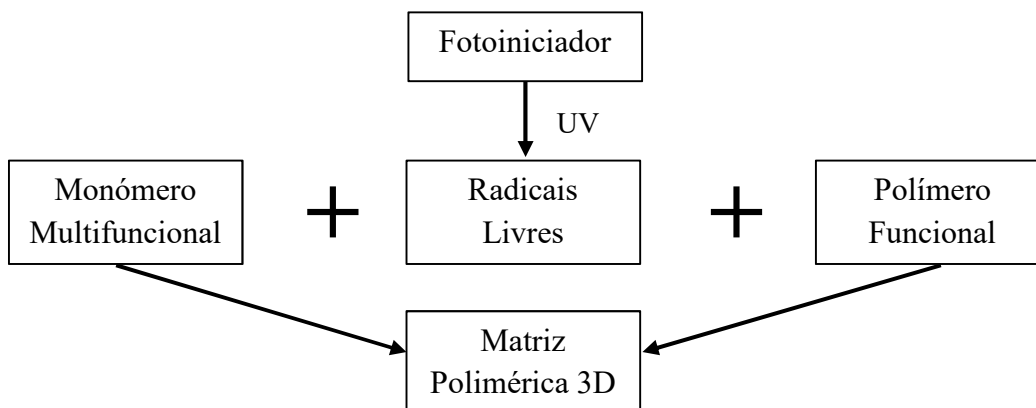


Figura 3. Representação do processo de reticulação fotoquímica (Adaptado de Ferreira, 2007a).

Entre os fotoiniciadores existentes é possível diferenciá-los em duas classes principais, do Tipo I e Tipo II. Os fotoiniciadores que quando expostos à radiação UV são alvo de um processo de fragmentação e formam radicais livres com capacidade para dar início à polimerização são classificados como do Tipo I. Alguns exemplos deste tipo de fotoiniciadores são derivados de acetofenonas e de α -hidroxialquil fenonas, como por exemplo o 2-hidroxi-1-[4-(2-hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona (Irgacure[®] 2959, Ciba) (Ferreira *et al.*, 2011). Já os fotoiniciadores do Tipo II, como por exemplo as benzofenonas exigem a presença de moléculas no sistema que são alvo de um processo primário de remoção de um átomo de hidrogénio (Ferreira *et al.*, 2011).

Williams e os seus colaboradores desenvolveram um estudo com a finalidade de avaliar a biocompatibilidade de três fotoiniciadores, o Irgacure[®] 2959 (Ir2959), a 1-hidroxiciclohexil-1-fenil cetona (Irgacure[®] 184) e a 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (Irgacure[®] 651) usando seis linhas celulares. Os resultados obtidos revelaram que a tolerância das células a concentrações idênticas dos diferentes fotoiniciadores em estudo é muito distinta. Entre os três fotoiniciadores estudados, o Ir2959 (Figura 4), apresentou melhores resultados, na medida em que foi bem tolerado nas várias linhas celulares e numa extensa gama de concentrações testadas (Williams *et al.*, 2005).

Faces às propriedades inerentes à técnica de fotopolimerização, materiais poliméricos reticulados por meio de irradiação UV são largamente usados em aplicações biomédicas, incluindo cardiovasculares, farmacêuticas, ortopédicas, odontológicas, em processos de esterilização, em biomateriais inteligentes, em implantes ósseos e por fim, adesivos (Benson, 2002).

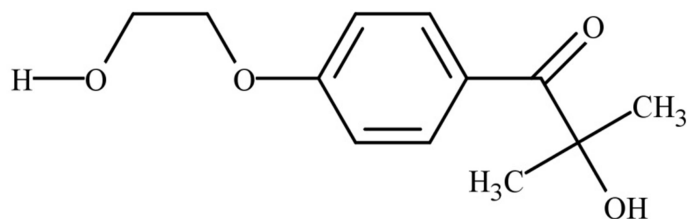


Figura 4. Estrutura representativa do Irgacure[®] 2959 (Ir2959).

A aplicação desta técnica na produção de adesivos apresenta muitas vantagens, na medida em que possibilita o desenvolvimento de materiais com: elasticidade controlada, ausência de solventes, elevada taxa de cura, boa aderência a diversos substratos (Moon *et al.*, 2004), reação rápida reduzindo o tempo de cirurgia (Deng *et al.*, 2009), o equipamento utilizado não é complexo e o custo associado é reduzido (Deng *et al.*, 2009), oferecem uma rápida recuperação ao paciente (Ferreira *et al.*, 2011) e apresentam uma alta estabilidade durante o armazenamento (Moon *et al.*, 2004).

Nas seções seguintes são descritos dois adesivos fotossensíveis à radiação UV produzidos a partir de dois polímeros distintos.

1.2.1. Adesivos cirúrgicos à base de Policaprolactona diol

Os adesivos cirúrgicos reticulados por meio de irradiação UV são amplamente estudados, sendo possível encontrar diferentes trabalhos nesse âmbito. Ferreira *et al.*, desenvolveram bioadesivos à base de policaprolactona diol (PCL) modificados com metacrilato de 2-isocianoetilo (IEMA) e reticulados por irradiação UV, tendo como agente fotoiniciador, o Ir2959 (Ferreira *et al.*, 2008). O material sintetizado foi irradiado com luz UV durante 60 segundos, tendo sido testada a sua biodegradabilidade em plasma humano durante 6 semanas, ao fim das quais a perda de peso foi de 10%. Testes de hemocompatibilidade revelaram que o bioadesivo apresentava caráter trombogénico e pouco hemolítico quando em contato direto com o sangue, podendo ser utilizado em aplicações cirúrgicas (Ferreira *et al.*, 2008).

O polímero usado neste estudo, a PCL consiste num poliéster alifático linear biodegradável com carácter semi-cristalino (Ferreira *et al.*, 2008) (Figura 5). Poliésteres alifáticos são amplamente utilizados como matéria-prima para a produção de dispositivos ou materiais para aplicações *in vivo*, nomeadamente para fins cirúrgicos, dada a sua

biocompatibilidade e biodegradabilidade (Sathiskumar e Madras, 2011; Vainionpää *et al.*, 1989).

A PCL pode ser produzida segundo duas vias distintas: por policondensação de um ácido hidroxicarboxílico e por uma segunda via de polimerização por abertura de anel (*Ring Opening Polymerization* (ROP) da ϵ -caprolactona (CL) utilizando uma variedade de espécies aniónicas, catiónicas e catalisadores (Woodruff e Hutmacher, 2010; Labet e Thielemans, 2009). A PCL exibe um ponto de fusão baixo (55-60°C) e temperatura de transição vítrea (T_g) de -60°C (Domb, *et al.*, 2011).

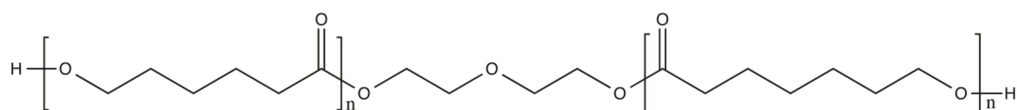


Figura 5. Estrutura representativa da policaprolactona diol.

A PCL foi utilizada como biomaterial e em dispositivos de libertação controlada de fármacos na década de 70 (Woodruff e Hutmacher, 2010). Contudo, a sua aplicação foi gradualmente substituída por outros polímeros reabsorvíveis, eficazes em aplicações a curto prazo, cuja respetiva degradação decorria num período de 2 a 4 meses, ao contrário da PCL que se degrada a longo prazo, podendo atingir os 3 a 4 anos (Woodruff e Hutmacher, 2010).

Recentemente, o interesse por este polímero impulsionou o seu regresso à investigação e utilização enquanto biomaterial (Woodruff e Hutmacher, 2010), como se verificou no estudo anteriormente enunciado. A PCL tem demonstrado ser também um polímero promissor para aplicações biomédicas como: terapia genética, libertação controlada de fármacos, engenharia de tecidos, adesivos cirúrgicos, entre outros, tendo já sido aprovado pela FDA como seguro para aplicações no corpo humano (Dash e Konkimalla, 2012a; Ferreira *et al.*, 2008; Xiao *et al.*, 2014). O Capronor[®] e SynBiosys[®] são exemplos de produtos à base de PCL existentes no mercado (Domb e Khan 2014).

Como já referido anteriormente, este polímero caracteriza-se pela reduzida taxa de degradação em meio *in vitro* e *in vivo*, resultante da sua alta cristalinidade e hidrofobicidade (Xiao *et al.*, 2014). Esta característica limita a sua aplicação, levando à sua utilização em dispositivos de libertação controlada de fármacos a longo prazo (Coelho *et al.*, 2010). O processo de degradação pode ocorrer segundo a ação de agentes biológicos ou por processos químicos e físicos, sendo a degradação por ação enzimática a mais relevante no caso da PCL. Diversos estudos têm sido desenvolvidos no âmbito da degradação enzimática da PCL

Introdução

nomeadamente recorrendo a lípases de fungos como o *Rhizopus delemer* e *Rhizopus arrhizus* e bactérias como as *Pseudomonas* (PS). Os resultados obtidos indicam que a lípase *Pseudomona* tem revelado uma maior eficácia no processo de degradação de materiais à base de PCL, podendo alcançar uma degradação total em 4 dias. Já a degradação da PCL por processo de hidrólise química revela-se menos eficaz, visto chegar a um período de anos (Buchanan, 2008).

Uma outra estratégia desenvolvida que visa minimizar ou até mesmo solucionar o problema referente à degradação da PCL, centra-se na capacidade deste poliéster alifático em interagir com outros polímeros por meio de mistura ou por copolimerização, alterando as propriedades mecânicas, física (solubilidade e cristalinidade) e biodegradabilidade do mesmo (Woodruff e Hutmacher, 2010; Dash e Konkimalla, 2012b). Esta modificação dá origem a um polímero com as propriedades requeridas amplificando assim, as áreas de aplicação de materiais à base de PCL. Segundo a literatura, a PCL é compatível com polímeros naturais como amido, quitosano e polímeros sintéticos, como por exemplo PEG, PU, poli(óxido de etileno) (PEO), PVA e PGA (Dash e Konkimalla, 2012b).

A investigação de copolímeros de PCL tem-se revelado uma alternativa eficiente na solução de lacunas inerentes ao polímero base, em particular a nível de biocompatibilidade, hidrofiliabilidade e taxa de degradação. A sutura monofilamentada Monocryl[®], já comercializada é composta por fibras de copolímeros de PCL e PGA. Este mesmo copolímero é igualmente aplicado na produção de diversos dispositivos com aplicação na área biomédica (Domb *et al.*, 2011). Na procura de melhorar a eficiência da PCL enquanto sistema de libertação controlada de fármacos foram desenvolvidos filmes compostos por um copolímero de Dextrano-g-PCL (Dash e Konkimalla, 2012a) e copolímeros constituídos por PCL-PEG (Wei *et al.*, 2009), onde o PEG contribui para uma maior hidrofiliabilidade dos materiais (Peng *et al.*, 2010). Com o objetivo de melhorar a biocompatibilidade deste polímero, foi desenvolvido um copolímero a partir de PCL e poli(ácido metacrílico) (PMAA) com aplicabilidade na área de engenharia de tecidos (Dash e Konkimalla, 2012a).

O presente trabalho visa desenvolver adesivos cirúrgicos à base de PCL e de copolímeros com PCL dadas as excelentes propriedades que apresenta a nível de biocompatibilidade, propriedades mecânicas, ausência de toxicidade, biodegradabilidade, permeabilidade para uma vasta gama de fármacos (Xiao *et al.*, 2014), solubilidade numa extensa gama de solventes orgânicos (Domb *et al.*, 2011) e um custo associado relativamente baixo (Domb e Khan 2014).

1.2.2. Adesivos cirúrgicos à base de Óleo de Rícino

O interesse pelo desenvolvimento de novos biomateriais a partir de recursos naturais tem sido motivado pela necessidade de materiais com novas propriedades, que amplifiquem as áreas de aplicação e minimizem o impacto ambiental que se tem feito sentir nos últimos tempos, como consequência da produção excessiva de materiais derivados do petróleo. O recurso a óleos vegetais, surge como uma alternativa sustentável e um dos recursos naturais de maior importância na produção de novos materiais poliméricos, desde poliuretanas, poliésteres, poliamidas, entre outros. As áreas de aplicação destes compostos incluem a área alimentar, cosmética, médica e farmacêutica (Miao *et al.*, 2014; Petrović *et al.*, 2013; Spontón *et al.*, 2013; Yari *et al.*, 2014). O recurso a este tipo de matéria-prima possibilita a modificação química da própria estrutura; a exploração de uma vasta gama de espécies naturais; a utilização de compostos com baixos custos associados (Yari *et al.*, 2014) e com maior biodegradabilidade (Miao *et al.*, 2014).

Entre os óleos vegetais, o óleo de rícino (OR) tem revelado ser uma matéria-prima de grande potencial para diversas aplicações (Yari *et al.*, 2014). Este é extraído de sementes da planta do rícino, de nome científico *Ricinus communis* (Ogunniyi, 2006), que apresentam elevada toxicidade devido à presença de ricina, mas no decorrer do processo de extração do OR este é eliminado, visto não ser lipossolúvel (Ferreira *et al.*, 2007b; Ogunniyi, 2006).

O óleo de rícino caracteriza-se como um óleo viscoso quase incolor ou amarelo e não volátil (Ferreira *et al.*, 2007b; Ogunniyi, 2006). É composto por uma percentagem significativa de triglicerídeos de ácidos gordos (83,6- 90%) (Narine e Kong, 2005), aos quais aproximadamente 90% correspondem ao ácido ricinoléico (Dwan'Isa *et al.*, 2005). Este apresenta na sua estrutura uma cadeia de 18 carbonos, com uma ligação dupla entre o carbono 9 e 10 e um grupo hidroxilo no carbono 12 (Figura 6).

A investigação em torno deste óleo vegetal tem levado à sua utilização na preparação de poliuretanas, poliésteres e poliamidas amplamente usados na indústria química na produção de vernizes e tintas, na área médica e farmacêutica em sistemas de libertação controlada de fármacos, bioadesivos, analgésicos, anti-inflamatórios, produtos cosméticos, entre outros (Ferreira *et al.*, 2007b; Yari *et al.*, 2014).

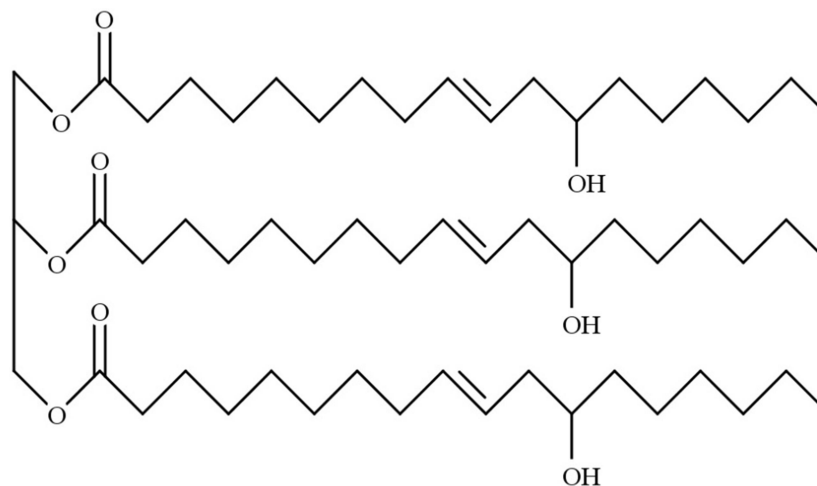


Figura 6. Estrutura representativa do óleo de rícino.

Em 2007, Ferreira *et al.*, desenvolveram um estudo sobre a síntese de bioadesivos compostos por poliuretanas à base de óleo de rícino, por meio da modificação dos grupos hidroxilo do óleo com diisocianato de isoforon (IPD). Neste estudo verificou-se a adesão deste filme às folhas de gelatina em ambiente húmido e identificou-se o seu carácter não-hemolítico e trombogénico (Ferreira *et al.*, 2007b). Recentemente desenvolveram-se materiais com propriedades antibacterianas de poliuretanas à base de óleo de rícino usadas como curativo fechado, que permitisse gerar um ambiente húmido e estéril à cicatrização (Yari *et al.*, 2014). Este material apresentou níveis de biocompatibilidade elevados (Yari *et al.*, 2014).

Num outro estudo, a síntese de poliuretanas a partir de óleo de rícino modificado com anidrido maleico foi avaliada, por meio de diferentes proporções de monómero. A degradação destes materiais foi estudada durante 2 meses, sob a ação de microrganismos e de uma cultura bacteriana de *Pseudomonas* sp. (DBFIQ-P36). As taxas de degradação alcançadas nestes meios foram posteriormente comparadas com a taxa de degradação de uma poliuretana, produzida a partir de poliéter e de TDI. O material com a maior proporção de anidrido maleico revelou uma perda de massa na ordem dos 12% sob ação de microrganismos e de 30% sob a ação de *Pseudomonas* sp. Por outro lado, o material com uma maior percentagem de óleo de rícino exibiu valores de degradação consideráveis, mas inferiores quando em comparação com o material anterior. O material composto por uma poliuretana, exibiu perdas de massa baixas, resultante do menor teor de grupos éter na sua estrutura (Spontón *et al.*, 2013).

Sathiskumar e Madras sintetizaram poliésteres à base de óleo de rícino com recurso a diferentes monómeros, onde diferentes razões molares dos mesmos foram testadas. O estudo

de degradação destes materiais em meio de PBS, num período de 25 dias revelou perdas de massa na ordem dos 70 a 100% (Sathiskumar e Madras, 2011), comprovando o potencial do OR na produção de copolímeros biodegradáveis.

Face o potencial dos polímeros PCL e óleo de rícino, no presente trabalho definiu-se o desenvolvimento de copolímeros por combinação destes dois polímeros de origens distintas, com o principal intuito de combinar as propriedades mecânicas da PCL com a rápida degradação dos materiais à base de óleo de rícino.

1.3. Sistemas de Liberação controlada de fármacos

A administração de fármacos pode ser realizada por meio de diferentes vias, cuja seleção depende de vários fatores, como a patologia em questão, as propriedades do fármaco, o tempo de tratamento estipulado e o efeito pretendido (Jain, 2014). Os métodos convencionais de administração de fármacos centram-se em comprimidos, cremes, cápsulas, supositórios e injeções. O recurso a estes métodos requer uma administração repetida do medicamento para manutenção da dose, dando origem a flutuações na concentração do mesmo no organismo. Após a introdução do fármaco no corpo humano está certo que este poderá atingir valores de concentrações superiores aos terapêuticamente aceitáveis, tornando-se tóxico (Almeida, 2010; Coelho *et al.*, 2010). Após esta fase verifica-se uma redução na concentração de fármaco, que pode alcançar níveis significativamente baixos, tornando o processo terapêutico ineficiente (Almeida, 2010).

Esta limitação tem conduzido ao desenvolvimento de novos métodos de administração de fármaco, como sistemas de liberação controlada (SLC) que consistem em dispositivos que incorporam um agente terapêutico e realizam a sua liberação no local de ação específico (Shaik *et al.*, 2012). O recurso a este método de administração de fármacos visa controlar a velocidade de liberação de modo a evitar flutuações e manter a concentração do fármaco dentro dos limites terapêuticos; tornar a administração do fármaco mais segura para o paciente; minimizar a degradação e perdas de fármaco de modo a evitar efeitos secundários; diminuir o número de administrações e reduzir o período de terapia (Coelho *et al.*, 2010; Jain, 2014; Shaik *et al.*, 2012). Contrapondo estes fatores, os SLC apresentam algumas desvantagens como elevado custo associado, produtos de degradação nocivos e possível toxicidade dos materiais (Coelho *et al.*, 2010). Este método não é somente aplicado no transporte de fármacos, mas igualmente de proteínas e outros agentes terapêuticos.

Introdução

Diferentes materiais são atualmente utilizados como suporte em SLC, nos quais se destacam os materiais poliméricos (Shaik *et al.*, 2012). Como referenciado anteriormente, este tipo de materiais encontra-se dividido em duas classes: natural e sintético, ambos usados na produção de SLC. De origem natural são utilizados em SLC o colagénio, o quitosano, o dextrano e a celulose (Coelho *et al.*, 2010), enquanto de origem sintética são utilizados o PLA, PGA, PLGA (Shaik *et al.*, 2012), PCL, poli(dioxanona) (PDS) (Coimbra, 2010), PEG, entre outros (Coelho *et al.*, 2010). A biodegradabilidade é uma mais-valia para os materiais utilizados para este fim. Os polímeros naturais são portadores deste requisito, bem como de biocompatibilidade, mas encontram-se associados ao risco de infeções e à impossibilidade de uma produção uniforme (Coelho *et al.*, 2010).

Os polímeros sintéticos, como já referenciado possibilitam a produção de materiais com as propriedades requeridas para aplicação final e com as mesmas especificações, podendo ser classificados como biodegradáveis e não-biodegradáveis. Contudo, quando se pretende aplicações internas, é essencial a utilização de polímeros sintéticos biodegradáveis, que apresentam na sua estrutura ligações passíveis de sofrer degradação, como éster, amida, uretano e ureia. A utilização de copolímeros para SLC, que combinem polímeros naturais ou sintéticos são também vantajosos visto conjugarem a biodegradabilidade e biocompatibilidade dos polímeros naturais com as propriedades mecânicas dos polímeros sintéticos (Coelho *et al.*, 2010).

Os SLC produzidos a partir de materiais poliméricos podem ser classificados segundo quatro categorias distintas: sistema de libertação controlada por difusão, sistema de libertação ativado pelo solvente, sistema de libertação controlada por ação química e sistema de libertação controlada magneticamente (Almeida, 2010; Bajpai *et al.*, 2008; Coelho *et al.*, 2010; Coimbra, 2010). Estes dispositivos são alvo de constantes desenvolvimentos, possibilitando a sua aplicação nas mais diversas formas, nomeadamente hidrogéis, nanopartículas (Kumari *et al.*, 2010), microesferas (Kim e Pack, 2006) e adesivos (Henkel, 2015). Esta diversidade de materiais possibilita a sua aplicação em distintas áreas biomédicas, como tratamentos oftalmológicos (Kuno e Fujii, 2011), a nível bucal e intra-nasal (Henkel, 2015), de tumores cerebrais, de infeções ósseas, de feridas, queimaduras e úlceras em particular para pacientes diabéticos (Domb e Khan, 2014), bem como administração oral de insulina por meio de nanopartículas sintetizadas, de base PCL e um polímero acrílico poli(catiónico) não-biodegradável (Kumari *et al.*, 2010).

No presente trabalho visa-se aliar ao desenvolvimento de novos materiais enquanto adesivos cirúrgicos à administração controlada de fármaco, desenvolvendo assim, um dispositivo eficaz na cicatrização de incisões.

1.3.1. Ofloxacina

A cicatrização é um processo complexo e dinâmico, uma vez que envolve a interação entre células, matriz extracelular e sistemas mediadores. Este processo decorre de forma contínua e envolve um conjunto de fenómenos como coagulação, inflamação, proliferação e remodelagem (Velnar *et al.*, 2009) e a sua eficácia pode ser melhorada por meio da ação de uma substância ativa no local de encerramento da incisão.

Para o tratamento de incisões pós-cirúrgicas é conveniente a incorporação de um antibiótico no material de encerramento, com a finalidade de combater comuns infeções que decorrem durante o processo de recuperação pós-operatória. A ofloxacina é um exemplo de antibiótico do tipo quinolona, usado no tratamento de infeções bacterianas ao nível das vias respiratórias, urinárias e genitais, região abdominal e ocular, podendo ser administrado por via oral, intravenosa e na forma de colírio. A capacidade de atuar sobre vasta gama de bactérias tanto Gram-positiva como Gram-negativa, confere-lhe um maior potencial antibacteriano (Ofloxacina ratiopharm, 2015; Floxedol, 2015; Nie et al., 1995). A dose comum de ofloxacina para um adulto é de 200-400mg, duas vezes por dia quando administrada por via oral (Ofloxacina ratiopharm, 2015).

A ofloxacina apresenta um peso molecular de 361,4g/mol e um ponto de ebulição e de fusão na ordem dos 571,5°C e 250-257°C, respetivamente, que possibilita a sua incorporação nos adesivos cirúrgicos desenvolvidos (Chemnet, 2015; Zilberman e Elsner, 2008). Por outro lado, o seu comprimento de onda de absorção situa-se nos 295nm (Diwakar e Rajat, 2010), não interferindo com a utilização de alguns fotoiniciadores, como o Ir2959 cujo comprimento de onda para utilização é de 254nm. A respetiva estrutura química da ofloxacina encontra-se representada na Figura 7.

Nie e os seus colaboradores desenvolveram um estudo em torno de copolímeros à base de PLA e PGA, como sistema de libertação controlada de antibióticos, em particular da ofloxacina, como método alternativo no tratamento de infeções ósseas. Neste caso, constatou-se que ao fim dos primeiros 7 dias houve uma libertação significativa de fármaco, em ambos os materiais desenvolvidos, tendo sido quase total no copolímero composto por uma mesma percentagem de ambos os polímeros (Nie et al., 1995).

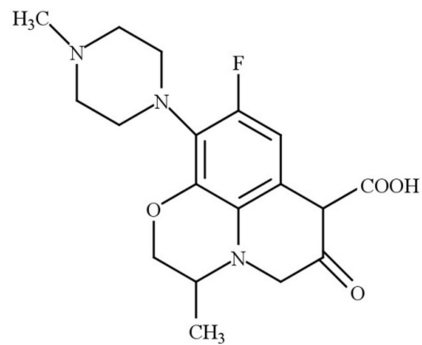


Figura 7. Estrutura representativa da Ofloxacin.

No presente trabalho visa-se aliar à preparação de novos materiais enquanto adesivos cirúrgicos, a administração controlada deste fármaco, desenvolvendo assim, um dispositivo que promova adesão e a cicatrização de incisões.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

A síntese dos prepolímeros envolveu o uso de policaprolactona diol (PCL, $M_n \approx 530$), fornecida pela *Sigma-Aldrich* e óleo de rícino (OR, $M_n \approx 928,5$) fornecido pela *ACROS Organics*, modificados pelos monómeros metacrilato de 2-isocianoetilo (IEMA, $M_n \approx 155,15$, pureza de 98%) fornecido pela TCI e o Laromer[®] LR 9000 (LAR) adquirido pela BASF (Alemanha). Estes reagentes não foram alvo de qualquer alteração antes da sua utilização.

O fotoiniciador usado durante as reações foi 2-hidroxi-1-[4-(2-hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona, de nome comercial Irgacure[®] 2959 (Ir2959) adquirido da CIBA (*Ciba Specialty Chemicals*, Basel, Suíça) e utilizado como recebido. Como solventes foram utilizados o éter dietílico (pureza de 99%) fornecido pela *Fisher Chemical* e o etanol (96%) adquirido pela *PanReac AppliChem*. A formamida (99%) e o etilenoglicol (99,8%) foram fornecidos pela *Sigma-Aldrich* e o propilenoglicol pelo fornecedor José M. Vaz Pereira. O clorofórmio (99,9%) utilizado na lavagem de material foi fornecido pela JMGS (José Manuel Gomes dos Santos, LDA). Uma solução saturada de sulfato de cobre pentahidratado (98%) fornecida pela *Sigma-Aldrich* foi necessária no teste para determinação da capacidade absorção de água dos materiais.

Para executar o teste de degradação foi necessária a utilização de pastilhas de PBS fornecidas pela *Sigma-Aldrich*. No teste de hemocompatibilidade utilizou-se 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil) fenilglicol polietileno, também designado por Triton X[®]-100 fornecido pela *Fisher BioReagents*, ferrocianeto de potássio (99%) pela *Sigma-Aldrich*, cianeto de potássio (97%) da *ACROS Organics*, cloreto de cálcio (99,5%) da *Panreac Química SA*, di-hidrogenofosfato de potássio (99,5%) da CHEM-LAB, formaldeído (37%) e hemoglobina bovina fornecidos pela *Sigma-Aldrich*. O sangue venoso de coelho usado nos testes de hemocompatibilidade foi adquirido pela PROBIOLÓGICA (Empresa de Produtos Biológicos, Lda.), tendo sido utilizado no mesmo dia em que foi recebido.

O clorofórmio-deuterado usado na preparação das amostras para análise por meio da técnica de Ressonância Magnética Nuclear e a ofloxacina utilizada no estudo de libertação de fármaco foram ambos fornecidos pela *Sigma-Aldrich*. Para realizar os testes de viabilidade celular e da atividade antibacteriana dos materiais desenvolvidos na Universidade da Beira

Interior (UBI, Covilhã) foi necessário Meio Eagle modificado por *Dulbecco (Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM-F12)*, ácido etilenodiaminotetracético (*Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA*) e tripsina fornecidos pela *Sigma-Aldrich* (Sintra, Portugal), *3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulphophenyl)-2H-tetrazolium* (MTS) pela *Promega (Madison, Wisconsin, Estados Unidos da América)*, fibroblastos humanos criopreservados (*normal human dermal fibroblastos adult, NHDF*) fornecidos pela *PromoCell (Labclinics, SA; Barcelona, Espanha)*, soro fetal de bovino (*Foetal bovine serum, FBS*) da *Biochrom AG* (Berlim, Alemanha) e a bactéria *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) adquirida à ATCC. No Anexo C, Tabela C.1 encontram-se listados os reagentes utilizados nos vários procedimentos experimentais, bem como a respetiva fórmula química, peso molecular e massa volúmica.

2.2. Métodos de Síntese

2.2.1. Síntese de prepolímeros e copolímeros

A síntese de prepolímeros à base de PCL e OR foi impulsionada pelos resultados obtidos em estudos anteriores, como descrito nas seções 1.2.1. e 1.2.2. Para a modificação dos polímeros PCL e OR selecionaram-se os monómeros IEMA e LAR, ambos da família dos isocianatos. O primeiro apresenta uma ligação dupla de carbono terminal e um grupo isocianato ($N=C=O$), extremamente reativo com grupos hidroxilo (OH), como visível na Figura 8. O segundo exhibe duas ligações duplas terminais de carbono e dois grupos de isocianato livres (Figura 9).

O estudo de novos materiais para produção de adesivos foi iniciado pela reprodução de um material desenvolvido por Ferreira, PCL-IEMA com 4% de fotoiniciador para posterior comparação com novos materiais e utilização na composição de copolímeros. Prepolímeros de base PCL modificados com diferentes proporções de LAR foram produzidos com a finalidade de obter materiais com propriedades distintas. A mesma estratégia foi aplicada na síntese de prepolímeros à base de OR modificado com os monómeros IEMA e LAR.

A produção dos copolímeros teve como objetivo contornar as limitações associadas à baixa taxa de biodegradação apresentada pela PCL. Por esta razão, optou-se pela associação de prepolímeros à base de PCL com outros de base OR. Pretendia-se desta forma aumentar a biodegradação, produzir materiais com diferentes propriedades e com recurso a materiais de origem natural.

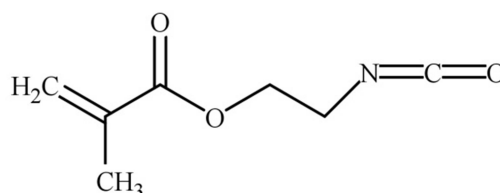


Figura 8. Estrutura representativa do metacrilato de 2-isocianoetilo (IEMA).

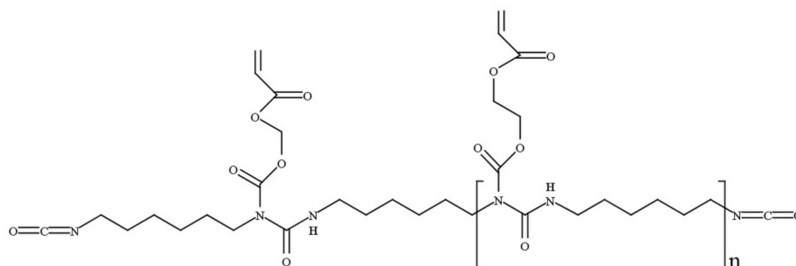


Figura 9. Estrutura representativa do Laromer[®] LR 9000 (LAR).

Na síntese dos diversos materiais utilizou-se o mesmo sistema experimental e as mesmas condições de operação, como ilustrado no Anexo D, Figura D.1. Mas o processo de modificação dos polímeros com diferentes monómeros envolveu algumas alterações a nível de proporções e volumes de reagentes, como descrito nas seções seguintes.

Síntese de prepolímeros por modificação com metacrilato de 2-isocianoetilo (IEMA)

Prepolímeros de Policaprolactona diol

De forma a sintetizar grupos uretana a partir de PCL, modificou-se os grupos hidroxilo do polímero com o monómero IEMA. Assim, para obter uma nova molécula com ligações duplas de carbono nas extremidades que possibilitam a fotoreticulação do material, foi adicionado IEMA na proporção de 2 moles para 1 mol de PCL.

A PCL (0,0189 moles) foi inserida num balão de fundo redondo de três tubuladuras e com capacidade de 500mL, à qual foram adicionados 10mL de éter dietílico. Dada a sua elevada volatilidade, foi necessário o encerramento das tubuladuras laterais para evitar a evaporação do mesmo. Posteriormente foi inserido na tubuladura central um condensador para refluxo do éter dietílico, ao qual foi anexado uma torre de secagem preenchida com cloreto de cálcio e algodão, com o objetivo de evitar a entrada de humidade no sistema reacional. O balão foi então inserido num banho de óleo termostaticado à temperatura de 60°C com agitação magnética. Por meio de um balão de azoto, este gás foi adicionado ao sistema

por uma tubuladura lateral para proporcionar um ambiente inerte à reação. Após a solubilização da PCL no éter dietílico adicionaram-se 0,0378 moles de IEMA à solução, de forma rápida, para minimizar as perdas de solvente. Esta reação decorreu pelo período de 24 horas, ao que se seguiu a adição do fotoiniciador à solução sintetizada. A percentagem de Ir2959 adicionada à mistura foi de 4% relativamente à massa de monómero. Após a dissolução completa do fotoiniciador, o balão foi removido do sistema e envolvido em papel de alumínio, de modo a minimizar a sua exposição à luz. Obteve-se no final uma solução viscosa e transparente, PCL-IEMA(1:2).

Prepolímeros de Óleo de Rícino

A síntese de prepolímeros de base óleo de rícino desenvolveu-se por adição do monómero IEMA ao polímero natural, com a finalidade de obter grupos uretana. Para este fim foram testadas duas proporções distintas. Num primeiro caso, testou-se a adição de 2 moles de IEMA por cada 1 mol de OR, onde aproximadamente 0,0108 moles de óleo de rícino foram inseridos num balão de fundo redondo, idêntico ao descrito na seção anterior. O balão foi então inserido num banho de óleo à temperatura de 60°C e com agitação magnética. Após a adição de azoto ao balão de reação, adicionaram-se 0,0216 moles de IEMA à solução. A reação teve a duração de 24 horas, após as quais se adicionou uma solução de 4% de fotoiniciador previamente dissolvido em 20mL de éter dietílico. Logo após a dissolução completa do Ir2959, o balão foi devidamente removido e armazenado. Este material foi denominado por OR-IEMA(1:2).

Numa segunda proporção testaram-se 3 moles de IEMA para 1 mol de OR, de forma a promover a reação entre todos os grupos isocianato e hidroxilo. Na síntese do prepolímero OR-IEMA(1:3) seguiu-se o mesmo procedimento experimental que o utilizado na síntese do prepolímero OR-IEMA(1:2). Desta forma adicionaram-se 0,0324 moles de IEMA a 0,0108 moles de OR e utilizaram-se 40mL de éter dietílico para dissolver o fotoiniciador. Neste caso foram testadas três percentagens de fotoiniciador distintas: 4, 6 e 8%, com a finalidade de desenvolver um material com as devidas propriedades.

Síntese de prepolímeros por modificação com Laromer® LR 9000

Prepolímeros de Policaprolactona diol

O procedimento experimental executado durante a síntese de prepolímeros de base PCL modificados com LAR foi comum ao descrito na seção de síntese de prepolímeros de policaprolactona diol modificados com IEMA, tendo sofrido alterações no volume de solvente aplicado e no tempo de modificação. Na síntese destes prepolímeros testaram-se três proporções distintas. Num primeiro caso, adicionou-se 1 mol de LAR por cada 1 mol de PCL, com a finalidade de um grupo isocianato reagir com um grupo hidroxilo da PCL, mantendo grupos isocianato livres. Nesta modificação utilizaram-se aproximadamente 40mL de éter dietílico e o tempo de reação foi reduzido para 7 horas. Após a finalização desta etapa foi adicionado fotoiniciador à solução sintetizada. Uma vez que a percentagem de Ir2959 a utilizar para a reticulação fotoquímica do material sintetizado era ainda desconhecida, foram testadas duas percentagens distintas: 2 e 4 %. A percentagem de fotoiniciador inserida na solução foi calculada mediante a massa de LAR utilizada na modificação. Após a adição deste composto, manteve-se o balão nas mesmas condições (temperatura a 60°C, com refluxo de solvente e agitação magnética), durante o tempo necessário para que houvesse uma solubilização total do fotoiniciador, neste caso aproximadamente 30 minutos. Assim que finalizada esta etapa o balão foi removido do sistema experimental e a solução do prepolímero PCL-LAR(1:1) foi transferido para um frasco devidamente fechado e envolvido em papel de alumínio para uma maior proteção da luz.

Num segundo caso, procedeu-se à adição de 2 moles de LAR por cada 1 mol de PCL, de modo a ter um consumo total dos grupos hidroxilo por reação com grupos isocianato do LAR, mantendo ainda assim grupos isocianato livres. Para tal utilizaram-se 0,0188 moles de PCL aos quais foram adicionados 0,0376 moles de LAR, tendo sido adicionado 60mL de solvente, de modo a diminuir a viscosidade da mistura e permitir a homogenização. A reação decorreu num período de 6 horas, e após a modificação procedeu-se à adição de 4% de Ir2959, seguindo-se o mesmo protocolo que o aplicado no primeiro caso, bem como o armazenamento da solução, denominado por PCL-LAR(1:2).

Um terceiro caso envolveu a adição de 1 mol de LAR por cada 2 moles de PCL, onde o consumo de grupos isocianatos foi total, mantendo-se livres grupos hidroxilo. Às 0,0189 moles de PCL utilizadas adicionaram-se 30mL de éter dietílico e após a sua dissolução, foram introduzidos no balão 0,00945 moles de LAR. Ao fim de 5 horas de síntese, foram

adicionados 4% de Ir2959 à solução, segundo a massa de LAR utilizada. A solução final, PCL-LAR(2:1) foi armazenada nas mesmas condições que as soluções anteriores.

Prepolímeros de Óleo de Rícino

O procedimento experimental usado na síntese de prepolímeros à base OR modificados com LAR é comum ao utilizado na síntese de prepolímeros de óleo de rícino modificados com IEMA, como descrito na seção 2.2.1 (Prepolímeros de óleo de rícino). A síntese de prepolímeros à base de óleo de rícino modificados com LAR, envolveu igualmente o estudo de duas proporções distintas. Num primeiro caso testaram-se 2 moles de LAR para 1 mol de OR onde por reação entre grupos NCO e OH, permaneceram grupos isocianato e hidroxilo livres. Nesta reação adicionaram-se 0,0216 moles de LAR a 0,0108 moles de OR. Após uma modificação de 5 horas, adicionou-se uma solução de Ir2959 previamente dissolvido em 20mL de éter dietílico. Foram testadas duas percentagens distintas de fotoiniciador: 4 e 6%. A solução final, OR-LAR(1:2) foi armazenada num recipiente fechado e envolvido em papel de alumínio para proteção do mesmo.

Num segundo caso testou-se uma proporção de 3 moles de LAR para 1 mol de OR, na qual alguns grupos isocianatos permaneceram livres, enquanto grupos hidroxilo foram consumidos na sua totalidade. Nesta proporção 0,0108 moles de OR foram adicionados 0,0324 moles de LAR. Os 4% de fotoiniciador em relação à massa de LAR foram adicionados à solução após aproximadamente 7 horas de reação, tendo sido previamente dissolvidos em 40mL de solvente. O prepolímero sintetizado foi designado por OR-LAR(1:3).

Copolímeros de Policaprolactona diol e Óleo de Rícino

Foram testados copolímeros à base de PCL e óleo de rícino, com a finalidade de reduzir o tempo de degradação, nomeadamente dos materiais de base PCL, visto ser um dos maiores desafios que este tipo de material apresenta. No que se refere ao OR procurou-se melhorar as suas propriedades mecânicas por meio da combinação com a PCL.

Para a preparação dos copolímeros, selecionaram-se os prepolímeros de PCL e OR que exibiram melhores propriedades. Assim, entre os materiais modificados com IEMA foram escolhidos o material PCL-IEMA(1:2) com 8% de fotoiniciador e OR-IEMA(1:3) com 8% de fotoiniciador. Para os modificados com LAR, os prepolímeros PCL-LAR(1:1) com 4% de fotoiniciador e o OR-LAR(1:3) com 4% de fotoiniciador.

A preparação dos copolímeros decorreu por meio de uma mistura homogénea de um prepolímero de PCL com um prepolímero de OR, variando a percentagem dos mesmos na

mistura. No âmbito dos prepolímeros modificados com IEMA foram testadas diversas percentagens, entre as quais se destacaram:

- OR-PCL-IEMA(75/25): 75% de OR-IEMA(1:3) e 25% de PCL-IEMA(1:2);
- OR-PCL-IEMA(25/75): 25% de OR-IEMA(1:3) e 75% de PCL-IEMA(1:2);
- OR-PCL-IEMA(10/90): 10% de OR-IEMA(1:3) e 90% de PCL-IEMA(1:2).

Nos prepolímeros modificados com LAR foram testados igualmente diferentes percentagens, tendo sido dada continuidade ao estudo com os seguintes materiais:

- OR-PCL-LAR(25/75): 25% de OR-LAR(1:3) e 75% de PCL-LAR(1:1);
- OR-PCL-LAR(10/90): 10% de OR-LAR(1:3) e 90% de PCL-LAR(1:1).

2.2.2. Incorporação de fármaco

O estudo de libertação de fármaco foi realizado usando o prepolímero PCL-LAR(1:1), dada a flexibilidade e resistência que apresentava. O procedimento de síntese dos adesivos com ofloxacina incorporada foi essencialmente a mesma que para os materiais sem fármaco, descrito na seção 2.2.1. (Síntese de prepolímeros por modificação com Laromer 9000, Prepolímeros de Policaprolactona diol). Após a dissolução do agente reticulante mantiveram-se as condições de operação, tendo sido adicionado o fármaco, previamente dissolvido em etanol, visto não apresentar a devida solubilidade no solvente usado durante as modificações. Após um período de 3 horas foi possível obter uma mistura homogênea, transparente e com uma consistência extremamente líquida que impossibilitava a produção dos filmes de PCL-LAR(1:1) com fármaco incorporado. Logo, foi necessário recorrer a um evaporador da *Büchi* composto por três equipamentos: *Rotavapor R-114*, *Vacuum Pump V-700* e *WaterBatch B-480*, de modo a evaporar o etanol presente na mistura e obter uma solução com uma consistência mais viscosa, que permitisse a preparação dos adesivos. A percentagem de ofloxacina adicionada à solução de PCL-LAR(1:1) foi de 1 e 5%, em relação à massa de polímero modificado.

2.2.3. Reticulação fotoquímica

Após a preparação dos prepolímeros e preparadas as misturas de copolímeros, procedeu-se à reticulação fotoquímica dos mesmos, obtendo-se filmes transparentes e flexíveis. Este procedimento realizou-se por meio de uma câmara UV (modelo *Irradiation Chamber BS-02*) cuja gama de comprimento de onda de radiação está entre os 200 e os 800nm (Dr.Gröbel, BS-02/BS-03 Spectras; Dr.Gröbel, Irradiation Chamber BS-02). Para realizar a reticulação dos materiais com fármaco incorporado foi necessário remover as

lâmpadas UV-B de comprimento de onda entre 320 e 290nm, de modo a que o fármaco cujo comprimento de onda característico é de 295nm não absorvesse a radiação UV e impossibilitasse a reticulação do material.

Para as diferentes percentagens de fotoiniciador testadas na síntese dos diversos prepolímeros de PCL e copolímeros, foram igualmente avaliados tempos de irradiação distintos, com a finalidade de determinar o tempo de fotoreticulação ideal para cada material. Após a irradiação dos materiais, foi possível analisar de imediato a flexibilidade dos materiais e em alguns casos verificou-se a permanência de líquido residual na sua superfície. Estas foram posteriormente limpas e devidamente armazenadas.

Na Tabela 1 encontram-se compilados todos os materiais sintetizados, a respetiva percentagem de fotoiniciador, o tempo de irradiação e descritas algumas observações que permitiram eficazmente selecionar os materiais que continuavam no estudo.

Tabela 1. Listagem de prepolímeros e copolímeros de PCL e OR sintetizados, respetiva percentagem de fotoiniciador, tempo de irradiação e observações realizadas aos adesivos.

	Material	Percentagem de Fotoiniciador (%)	Tempo de irradiação (s)	Observações
Prepolímeros de PCL	PCL-IEMA(1:2)	4	60	Muito transparente, muito flexível e resistente
		8	120	Muito transparente, muito flexível e resistente
	PCL-LAR(1:1)	2	120	Muito flexível, resistente e transparente
		4	30	Muito flexível, muito transparente e resistente
	PCL-LAR(1:2)	4	60	Transparente e resistente
	PCL-LAR(2:1)	4	30	Muito frágil e muito transparente
Prepolímeros de óleo de rícino	OR-IEMA(1:2)	4	300	Muito transparente e frágil
	OR-IEMA(1:3)	4	600	Transparente e muito frágil
		6	600	Transparente e muito frágil
		8	420	Transparente e frágil
	OR-LAR(1:2)	4	600	Muito frágil e

		6	600	transparente Muito frágil
	OR-LAR(1:3)	4	180	Frágil e muito transparente
Copolímeros	OR-PCL-IEMA(80/20)	-	600	Flexível, muito transparente e alguma resistência
	OR-PCL-IEMA(75/25)	-	540	Muito transparente, aderente e flexível
	OR-PCL-IEMA(50/50)	-	240	Muito transparente e flexível
	OR-PCL-IEMA(25/75)	-	420	Muito transparente e flexível
	OR-PCL-IEMA(10/90)	-	240	Transparente, muito flexível e resistente
	OR-PCL-LAR(75/25)	-	120	Alguma transparência e frágil
	OR-PCL-LAR(50/50)	-	60	Transparente e alguma fragilidade
	OR-PCL-LAR(25/75)	-	480	Transparente, aderente e alguma resistência
	OR-PCL-LAR(10/90)	-	360	Aderente, alguma transparência e flexibilidade
	OR-PCL-LAR(5/95)	-	240	Elevada flexibilidade, aderente e transparente

Deste modo, o processo de caracterização e estudo focou-se nos seguintes materiais:

- PCL-IEMA(1:2) com 60 segundos de irradiação UV;
- PCL-LAR(1:1) com 30 segundos de irradiação UV;
- PCL-LAR(1:2) com 60 segundos de irradiação UV;
- OR-PCL-LAR(25/75) com 480 segundos de irradiação UV;
- OR-PCL-LAR(10/90) com 360 segundos de irradiação UV;
- OR-PCL-IEMA(75/25) com 540 segundos de irradiação UV;
- OR-PCL-IEMA(25/75) com 420 segundos de irradiação UV;
- OR-PCL-IEMA(10/90) com 240 segundos de irradiação UV.

No caso do estudo de libertação controlada de fármaco, o prepolímero PCL-LAR(1:1) com fármaco incorporado, necessitou de 420 segundos de irradiação UV.

2.3. Métodos de Caracterização

As técnicas de caracterização foram selecionadas segundo a aplicação final do biomaterial, permitindo o estudo das propriedades de interesse. Assim, os adesivos sintetizados foram alvo de uma intensa análise por meio de diferentes técnicas analíticas, que possibilitaram a identificação dos grupos funcionais, a avaliação do carácter hidrofóbico/hidrofílico do material, a determinação do seu índice hemolítico, análise do seu potencial trombogénico, estudo da sua capacidade de adesão, estudar o potencial do material enquanto sistema de libertação controlada de fármaco, entre outros fatores. Os princípios de funcionamento das técnicas de caracterização utilizadas são relatados nas seções seguintes.

2.3.1. Espectroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada

A técnica de espectroscopia de infravermelho com reflexão atenuada (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, ATR-FTIR) é uma das mais amplamente usadas na caracterização de materiais, ao identificar e quantificar os grupos funcionais existentes nas amostras analisadas (Bach, 2012). É definida como uma técnica de funcionamento simples, de elevada eficácia e rapidez, que permite assim, conhecer com maior clareza os reagentes que são usados e acompanhar com maior precisão as reações, e garantir a eficácia das mesmas (Thermo Nicolet Corporation, 2015; Smith, 2011).

O ATR-FTIR tem como princípio de funcionamento um feixe de radiação infravermelho (IV) que passa pela amostra, originando a absorção de energia por parte dos grupos funcionais que compõem a mesma, mas somente na frequência que lhes é característica. O sinal resultante é alvo de um método matemático, Transformada de Fourier, que permite assim obter o espectro (Bach, 2012; Thermo Nicolet Corporation, 2015). A leitura deste exige o conhecimento prévio do número de onda correspondente e característico de cada grupo funcional. No Anexo E, Figura E.1. é possível analisar os grupos funcionais de maior interesse e o respetivo número de onda (Billmeyer, 1984). A análise de ATR- FTIR foi realizada num espectrofotómetro *Jasco FT/IR-4200 Spectrometer*, equipado com um “*Golden Gate Single Reflection Diamond ATR*” onde os espetros foram registados a 128 scans e com uma resolução de 4cm^{-1} .

2.3.2. Ressonância magnética nuclear (RMN)

Tal como a técnica de ATR-FTIR, a análise por Ressonância Magnética Nuclear é largamente usada na identificação de estruturas que constituem um material sólido ou uma

solução. Esta análise tem como princípio de funcionamento a incidência de um campo magnético sobre amostra, na qual os núcleos dos átomos que a constituem absorvem e reemitem radiação eletromagnética. Esta energia é então quantificada e representada num espectro (Stuart, 2002).

Para a análise dos polímeros PCL e OR e das respetivas modificações por meio de RMN foi necessário recolher uma amostra de cada material, com cerca de 11mg de massa e dissolver a mesma num volume de 1mL de clorofórmio-deuterado (CDCL₃). Posteriormente, esta solução foi introduzida num tubo de RMN e analisado num espectrómetro de 9.4 Tesla, com uma sonda TXI de 5mm existente no Laboratório de RMN do Centro de Química de Coimbra.

2.3.3. Avaliação da capacidade de absorção de água

A determinação da capacidade de absorção de água envolveu a preparação de três réplicas de cada material sintetizado, com 4cm² de área e 1mm de espessura. Antes de iniciar o teste, as amostras foram secas numa estufa a vácuo à temperatura de 50°C e pesadas, para assim obter o seu peso seco (W_s). Posteriormente, estas foram colocadas no interior de um recipiente fechado, no qual se encontrava uma solução saturada de sulfato de cobre pentahidratado, apresentando assim uma humidade relativa (HR) de aproximadamente 95%. No decorrer do teste as amostras foram pesadas em tempos predeterminados até alcançar um peso constante, referente ao seu peso hidratado (W_h). Desta forma, foi possível calcular a capacidade de absorção de água de cada adesivo através da Equação 1.

$$\text{Capacidade de absorção de água (\%)} = \left(\frac{W_h - W_s}{W_s} \right) \times 100 \quad (1)$$

2.3.4. Teste de adesão em folhas de gelatina

Dada a aplicação final dos adesivos é relevante avaliar a sua capacidade de adesão *in vitro*. Como tal, para simular a adesão dos materiais aos tecidos biológicos, duas folhas de gelatina com a mesma dimensão foram cortadas, e entre estas aplicou-se uma amostra de solução de cada um dos materiais sintetizados. A gelatina foi utilizada neste teste como tecido biológico, dada a presença semelhante de grupos amínicos na sua composição. Após a preparação das amostras estas foram individualmente irradiadas durante períodos de tempo predefinidos.

Finalizada esta etapa de preparação, procedeu-se os testes mecânicos de tração, com recurso a uma máquina de ensaios *Chatillon TCD 1000*. Estes foram realizados à temperatura ambiente, com uma velocidade de afastamento de 10mm/min. Cada ensaio foi finalizado com a fratura das folhas de gelatina (caso ocorresse adesão) ou com a sua separação (caso não ocorresse a adesão). O mesmo procedimento foi realizado com uma folha de gelatina, comum às usadas anteriormente para determinar um valor controlo da força de rutura máxima. No decorrer de cada ensaio a força aplicada pela sonda, o alongamento e o deslocamento da amostra foram registadas num *software* ao longo do tempo.

2.3.5. Determinação da energia de superfície por medição dos ângulos de contacto

A avaliação das propriedades superficiais dos adesivos produzidos tem imensa importância, pois independentemente da sua aplicação final é essencial estudar as interações estabelecidas entre o material e a superfície com a qual irá manter contato. Assim, a adesão, a determinação do seu carácter hidrofóbico ou hidrofílico ou até mesmo da respetiva biocompatibilidade dos materiais pode ser avaliada por meio da determinação das energias de superfície. Para tal, é recorrente o uso da técnica de medição dos ângulos de contacto, com o auxílio de diferentes solventes cujas tensões superficiais são conhecidas. Esta técnica tem como princípio o estudo da interface estabelecida entre a superfície sólida, o líquido e o vapor, com base na equação de *Laplace-Young* que descreve o equilíbrio das forças de tensões superficiais no ponto trifásico (Lugscheider e Bobzin, 2001).

A mediação dos ângulos de contato estáticos (Θ) envolveu a preparação prévia das amostras de cada material numa lamela de vidro, para assim obter uma superfície lisa. Esta medição foi realizada no equipamento *OCA 20 da Dataphysics*, à temperatura ambiente. Durante o estudo utilizaram-se quatro solventes diferentes: água, etilenoglicol, formamida e propilenoglicol, para uma posterior determinação das energias de superfície. Para cada um destes solventes realizaram-se dez medições em cada amostra, sendo assim possível determinar o ângulo de contato estático médio. As energias de superfície (γ_s) e as respetivas componentes dispersiva (γ_s^D) e polar (γ_s^P) foram determinadas segundo a relação de *Owens-Wendt-Rabel-Kaelble*. Este procedimento foi igualmente aplicado na determinação da energia de superfície e das componentes dispersiva e polar da gelatina utilizada no teste de adesão.

2.3.6. Microscopia eletrônica de varrimento

A morfologia da superfície dos materiais foi avaliada por meio da técnica de microscopia eletrônica de varrimento (*Scanning Electron Miscroscopy*, SEM). Esta técnica tem como princípio de funcionamento a utilização de um feixe de eletrões de alta energia, de modo a gerar diversos sinais na superfície da amostra. Os sinais que resultam da interação eletrão-amostra revelam informações sobre a morfologia externa da superfície em análise, bem como a composição química, cristalinidade e a orientação dos materiais que compõem a amostra (Geochemical Instrumentation and Analysis, 2015).

Antes de iniciar a análise dos adesivos, estes foram alvo de um processo de preparação, tendo sido inseridos sobre uma fita adesiva de carbono existente num suporte adequado para o efeito e posteriormente revestidos com uma camada fina de ouro, pois tratando-se de um material polimérico, este não é condutor. A análise foi realizada num aparelho de alta resolução *Zeiss Merlin[®] Compact/VP Compact* e as ampliações utilizadas para observar as amostras foram de 100x, 500x, 5000x e 10000x.

2.3.7. Propriedades térmicas – TGA e DSC

As propriedades térmicas dos adesivos produzidos foram determinadas por meio de duas técnicas de caraterização: análise termogravimétrica (TGA) e análise por calorimetria diferencial de varrimento, seguidamente descritas.

O estudo das propriedades térmicas dos adesivos iniciou-se com uma análise termogravimétrica (TGA), onde se avaliou a variação de massa em função da temperatura e/ou tempo, enquanto submetidas a um aumento de temperatura devidamente controlado. Assim, analisou-se a estabilidade térmica dos materiais em diversas condições, bem como a respetiva temperatura de degradação (T_d), correspondente à temperatura na qual a variação de massa do material é significativa, devido a um aumento de temperatura. A análise foi realizada num equipamento *SDT Q500* da *Thermal Analysis (TA) Instruments*, onde as amostras líquidas e reticuladas de cada material, previamente preparadas com uma massa variável entre os 5 e 10mg, foram aquecidas até 600°C a uma velocidade de aquecimento de 10°C/min sob uma atmosfera de azoto. Os dados foram tratados no *software Universal Analysis 2000* da *TA Instruments*.

Os prepolímeros e copolímeros reticulados também foram alvo de uma análise por calorimetria diferencial de varrimento (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC), por meio da

qual se analisou as alterações nas diversas amostras em função da temperatura (Gabbott, 2008). Para a execução desta foi preparada uma pequena amostra de cada material com massa entre 5 a 10mg e uma amostra de referência, posteriormente submetidas a uma variação de temperatura, em intervalos pré-definidos e a uma velocidade controlada. A análise realizou-se num equipamento de calorimetria diferencial de varrimento, modelo *Q100* da *TA Instruments*, com atmosfera inerte, a uma velocidade de aquecimento de 10°C/min, numa gama de temperaturas de -80°C até 100°C. Assim, que finalizada a análise obteve-se uma curva de DSC que permitiu analisar o fluxo de calor em função da temperatura e/ou do tempo, permitindo igualmente a determinação de diversos parâmetros como a temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_m), temperatura de transição vítrea (T_g) e entalpia de fusão (ΔH_m). Entre estes, foi determinada a temperatura de transição vítrea de cada material (Gabbott, 2008). Para este efeito recorreu-se ao *software TA Universal analysis 2000* para analisar os termogramas.

2.3.8. Teste de degradação

A aplicação final dos prepolímeros e copolímeros sintetizados centra-se no encerramento de incisões, sendo a biodegradação uma mais-valia para esta aplicação. Assim, foi avaliada a perda de massa de cada adesivo ao longo de um período de tempo estipulado.

A realização do teste de degradação envolveu uma primeira fase de preparação, onde foi preparada uma solução de PBS (tampão fosfato a pH 7,4), utilizada como meio de incubação de modo a recriar o ambiente fisiológico, no qual os materiais foram incubados. No que se refere às amostras, estas foram sintetizadas em triplicado, para cada tempo de incubação, com 1cm² de área e 1mm de espessura. Posteriormente, as amostras foram secas numa estufa de vácuo e pesadas, para assim registar a respetiva massa inicial ($m_{s,i}$). Após a pesagem, cada amostra foi inserida num frasco ao qual foram adicionados 7mL da solução de PBS. O estudo da degradação iniciou-se com a colocação dos frascos numa estufa a 37°C, durante 6 semanas. No decorrer deste período de tempo os frascos foram removidos da estufa em tempos preestabelecidos, às 24 e 72 horas e depois semana a semana, em função do início do teste.

Quando retiradas do meio de incubação, os adesivos foram limpos e colocados em placas de vidro, para uma posterior secagem a 37°C. Após uma semana, as amostras foram retiradas da estufa e pesadas, para registar a sua massa final ($m_{s,f}$). Assim, a percentagem de perda de massa dos materiais correspondente a cada ponto de análise foi calculada segundo a Equação 2.

$$Perda\ de\ massa\ (\%) = \left(\frac{m_{s,i} - m_{s,f}}{m_{s,i}} \right) \times 100 \quad (2)$$

2.3.9. Hemocompatibilidade

A hemocompatibilidade dos materiais foi avaliada *in vitro*, segundo a norma *International Organization for Standardization* (ISO) 10993-4, tendo sido estudados dois tipos de interação distintos: hemólise e trombogenicidade (ISO 10993-4, 1999; Van Oeveren, 2013). Para execução dos testes utilizou-se sangue de coelho anti-coagulado (sangue-ACD), fornecido pela PROBIOLÓGICA.

Na execução dos testes procurou-se reproduzir com a maior eficácia o ambiente no qual se procura estabelecer interação sangue-biomaterial, tornando o teste e os respetivos resultados mais próximos da realidade (Seyfert *et al.*, 2002; Van Oeveren, 2013). As variáveis que maior influência têm no teste de hemocompatibilidade são a temperatura à qual é realizado o teste, o tempo de contacto entre o sangue e biomaterial, a área, a textura e as propriedades da superfície, desde de químicas a mecânicas (Van Oeveren *et al.*, 1999; Van Oeveren, 2013; Vladkova, 2013). De seguida é descrito o procedimento realizado para a determinação do índice hemolítico e para a avaliação da trombogenicidade dos adesivos.

Determinação do índice hemolítico

Os testes foram executados segundo a norma *American Society for Testing and Materials* (ASTM F 756-00) (ASTM F 756-00, 2000), que possibilita a determinação da percentagem de hemólise induzida por cada material, por meio da quantidade de hemoglobina (Hb) que é libertada para o plasma durante o tempo que o material estabelece contato direto ou indireto com uma solução de sangue diluído. É possível assim avaliar a capacidade dos materiais poliméricos em induzirem a rutura da membrana celular dos glóbulos vermelhos.

A concentração de hemoglobina foi determinada por meio do método da cianometahemoglobina, segundo o qual o sangue utilizado deve apresentar uma concentração de hemoglobina de 10mg/mL \pm 1mg/mL e a concentração de Hb no plasma do sangue deve ser inferior a 2mg/mL. De modo a alcançar estes valores de concentração de Hb, previamente delineou-se uma curva de calibração a partir de várias soluções de hemoglobina, com diferentes concentrações, para determinar a concentração inicial de Hb no sangue recebido. A curva de calibração encontra-se representada no Anexo F, Figura F.1. Posto isso, diluiu-se o sangue-ACD com a solução de PBS até atingir as concentrações anteriormente referidas de hemoglobina no sangue e no plasma.

A concentração de Hb no sangue diluído foi de 10,5mg/mL e de concentração inicial de Hb no plasma foi de 0,83 mg/mL.

Para realizar este teste, os materiais foram sintetizados e preparados com uma área superficial de 21cm², devidamente secos e posteriormente inseridos em tubos de propileno, aos quais foram adicionados 7mL de PBS (tampão fosfato a pH 7,4), para realizar o contacto indireto. Após 12 horas de incubação a 37°C, foi removida a solução de PBS e os adesivos foram devidamente secos e inseridos novamente num tubo de propileno. Assim, aos materiais em contato direto e indireto foram adicionados 7mL da solução de sangue diluído. Os controlos foram preparados por diluição de sangue em PBS para o controlo negativo e diluição do sangue em água destilada para o controlo positivo. Os tubos foram então colocados numa estufa a 37°C pelo período de 3 horas, durante as quais estes foram delicadamente invertidos em intervalos de tempo de 30 minutos, com a finalidade de manter todo o material em contato com o sangue. Logo após o tempo de incubação, as amostras foram centrifugadas a 2200rpm durante 15 minutos, obtendo assim duas fases: o sobrenadante (plasma) e a componente celular sedimentada. A quantificação da hemoglobina (Hb) libertada para o sobrenadante por hemólise foi determinada por medição das densidades óticas (DO) de cada sobrenadante, num espectrofotómetro *UV/Vis Jasco V-550*, com uma absorvância de 540nm. A percentagem de hemólise correspondente a cada material foi calculada pela Equação 3. Assim, segundo a norma ASTM F 756-00 os materiais foram classificados em categorias com base no respetivo índice hemolítico, onde os materiais que apresentam uma percentagem de hemólise inferior a 2% são classificados como não- hemolíticos, entre 2 e 5% são designados por ligeiramente hemolíticos e por fim, os materiais com uma percentagem superior a 5% definem-se como hemolíticos.

$$\% \text{ Hemólise} = \left(\frac{DO_{teste} - DO_{controlo\ negativo}}{DO_{controlo\ positivo} - DO_{controlo\ negativo}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Avaliação da trombogenicidade

A avaliação do carácter trombogénico dos materiais sintetizados foi realizada segundo o método gravimétrico de *Imai e Nose*, onde foi possível contabilizar a massa de coágulos formada na superfície dos materiais quando em contato com o sangue (*Imai e Nose, 1972*). Este fenómeno interrompe o fluxo sanguíneo, sendo em certos casos a característica pretendida para o material desenvolvido (*Williams, 1987*).

A realização deste teste envolveu a preparação de três caixas de Petri de cada material em estudo, sem este ser removido da caixa após irradiação. Posto isto, foram adicionados 250µL de sangue-ACD na superfície de cada amostra, em três caixas de *Petri* vazias, usadas como controlo positivo, visto que o vidro se comporta como material trombogénico (Van Oeveren *et al.*, 1999).

O processo de coagulação iniciou-se com a adição de 25µL de uma solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) 0,10M previamente preparada a cada uma das amostras. Estas posteriormente foram colocadas numa estufa a 37°C e após 40 minutos interrompeu-se o processo de coagulação sanguínea por adição de 5mL de água nos coágulos formados. Estes foram colocados sobre papéis de filtro, e fixados com adição de 1mL da solução de formaldeído a 37% e depois devidamente filtrados. Posto isto, os papéis de filtro foram colocados numa estufa a 37°C, pelo período de 24 horas. A massa de coágulos formada na superfície das amostras foi calculada segundo a Equação 4.

$$\text{Massa de coágulo formada (\%)} = \left(\frac{m_{cg} - m_{cn}}{m_{cp} - m_{cn}} \right) \times 100 \quad (4)$$

2.3.10. Biocompatibilidade

A biocompatibilidade é definida como a capacidade de um material e os seus produtos de degradação não originarem respostas inflamatórias ou imunológicas, sendo uma das propriedades fundamentais nos materiais usados na área biomédica (Rihova, 1996). Em particular, os adesivos não devem comprometer o processo de cicatrização (Bouten *et al.*, 2014).

Para avaliar a biocompatibilidade de materiais desenvolvidos para aplicação na área médica, é essencial numa primeira fase desenvolver ensaios *in vitro*, de modo a avaliar esta propriedade de uma forma rápida, económica e sem recorrer ao uso de animais (Ratner *et al.*, 1996). Logo, a biocompatibilidade dos materiais sintetizados foi avaliada por meio de um teste de viabilidade celular. Paralelamente foi também determinada a atividade antibacteriana dos materiais. Ambos os testes foram realizados na Universidade da Beira Interior (UBI, Covilhã).

Estudo da viabilidade celular

A avaliação da citotoxicidade dos materiais desenvolvidos para aplicação biomédica é imprescindível. Atualmente as técnicas colorimétricas são as mais utilizadas, entre as quais o

teste MTS, caracterizado pela versatilidade, rapidez e elevada reprodutividade (Cunha, 2008; Lavrador, 2008). Este foi o método usado para delinear o perfil citotóxico dos adesivos em estudo.

Para iniciar o estudo do comportamento das células na presença dos diversos adesivos, estes foram previamente esterilizados por exposição a radiação UV durante 30 minutos. As células de fibroblastos humanos (hFib) foram cultivadas em contato direto com as amostras numa placa com 96 poços, a uma densidade de 10×10^3 células por material, durante períodos de incubação de 24 e 72 horas. O meio de incubação usado foi composto por DMEM-F12, suplementado com FBS (10%, v/v) e tripsina (Alves *et al.*, 2014). No decorrer do teste as enzimas mitocondriais, existente nas células vivas têm a capacidade de transformar os anéis tetrazólio do MTS em cristais *formazan* de cor azul escura que se acumulam no seu interior. Ao fim de cada período de incubação, a solução de cada poço foi removida e a viabilidade celular foi avaliada (Cunha, 2008; Lavrador, 2008). O meio de cultura removido foi substituído por uma mistura de 100µL de meio de cultura fresco com 20µL de solução de reagentes MTS/PMS. Posteriormente, as células foram incubadas a 37°C, sob uma atmosfera húmida com 5% de CO₂, pelo período de 4 horas. A absorvância foi medida através de um leitor de microplacas (*Sanofi, Diagnostic Pauster*) num comprimento de onda de 492nm. Em simultâneo, foram preparados dois controlos, um controlo negativo (K-) que corresponde à cultura de células sem contato com qualquer material e um controlo positivo (K+) onde etanol (96%) foi adicionado aos poços que continham células. O crescimento celular foi controlado por meio de um microscópio ótico invertido *Olympus CX41*, que contem uma câmara digital *Olympus SP-500 UZ* (Alves *et al.*, 2014).

Estudo da atividade antibacteriana

Um das principais limitações na utilização de materiais *in vivo*, é a ocorrência de infeções bacterianas. Por esta razão, a avaliação do crescimento bacteriano na presença dos materiais desenvolvidos é essencial no processo de caracterização (Alves *et al.*, 2014).

Entre as várias bactérias, a *S. aureus*, gram-positiva desperta maior interesse visto ser uma das responsáveis pela maioria das infeções que ocorrem durante a aplicação de um biomaterial num tecido vivo (Bazaka *et al.*, 2010). Para realizar este estudo foi necessário cultivar estirpes (1×10^8 CFU/mL) em placas de ágar, segundo um método de difusão em ágar. Posteriormente, as amostras foram colocadas na parte superior pelo período de 24 horas, a

37°C. Após este intervalo de tempo, procurou-se identificar a presença de um halo inibitório e as imagens da placa foram recolhidas para avaliar o crescimento de bactérias (Santos, 2014).

2.3.11. Estudo de libertação controlada de fármaco

A determinação do perfil de libertação da ofloxacina incorporada numa membrana de PCL-LAR(1:1) foi realizada por meio de um teste *in vitro*. Para tal, amostras deste prepolímero foram sintetizadas em triplicado, com 2cm² de área e 1mm de espessura. Posteriormente foram inseridas individualmente num frasco com 10mL de solução de PBS (pH 7,4) e colocados numa estufa a 37°C. Em tempos predeterminados foi recolhido o meio de incubação de cada amostra, para uma posterior quantificação do fármaco libertado por espectrofotometria UV/visível, no equipamento *UV/Vis Jasco V-550*, tendo sido repostos o mesmo volume de solução de PBS removido. As leituras de absorvâncias foram realizadas a um comprimento de onda de 295nm, característico do fármaco, em *cuvettes* de quartzo. Quando as absorvâncias obtidas não eram as convenientes, as amostras recolhidas eram diluídas para uma concertação adequada. Os adesivos de PCL-LAR(1:1) sem fármaco incorporado foram sujeitos ao mesmo procedimento e análise, tendo sido usado como controlo negativo.

Para determinar a concentração de ofloxacina libertada foi necessário delinear previamente a curva de calibração do fármaco. Para tal, prepararam-se 15 soluções padrão de ofloxacina com concentrações numa gama entre 0 e 0,02 µm/mL. A leitura da absorvância de cada solução foi realizada num comprimento de onda de 295nm. Deste modo, por meio dos valores de concentração de fármaco e de absorvância foi possível construir a curva padrão do fármaco (Anexo G, Figura G.1.).

3. Resultados e Discussão

3.1. Síntese de prepolímeros

Nesta seção visa-se ilustrar os esquemas reacionais de síntese dos prepolímeros. Dada a complexidade das estruturas e para uma leitura simplificada foram representados os esquemas reacionais dos prepolímeros: PCL-IEMA(1:2) (Figura 10), PCL-LAR(1:1) (Figura 11), OR-LAR(1:3) (Figura 12) e OR-IEMA(1:3) (Figura 13).

Prepolímero PCL-IEMA(1:2)

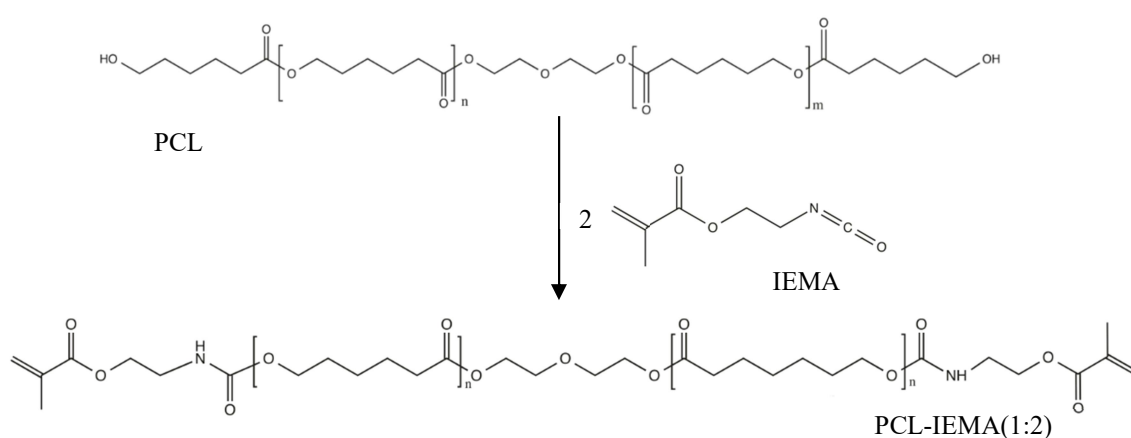


Figura 10. Representação esquemática da reação da PCL com IEMA na proporção de 1 mol de PCL para 2 moles de IEMA, PCL-IEMA(1:2).

Prepolímero PCL-LAR(1:1)

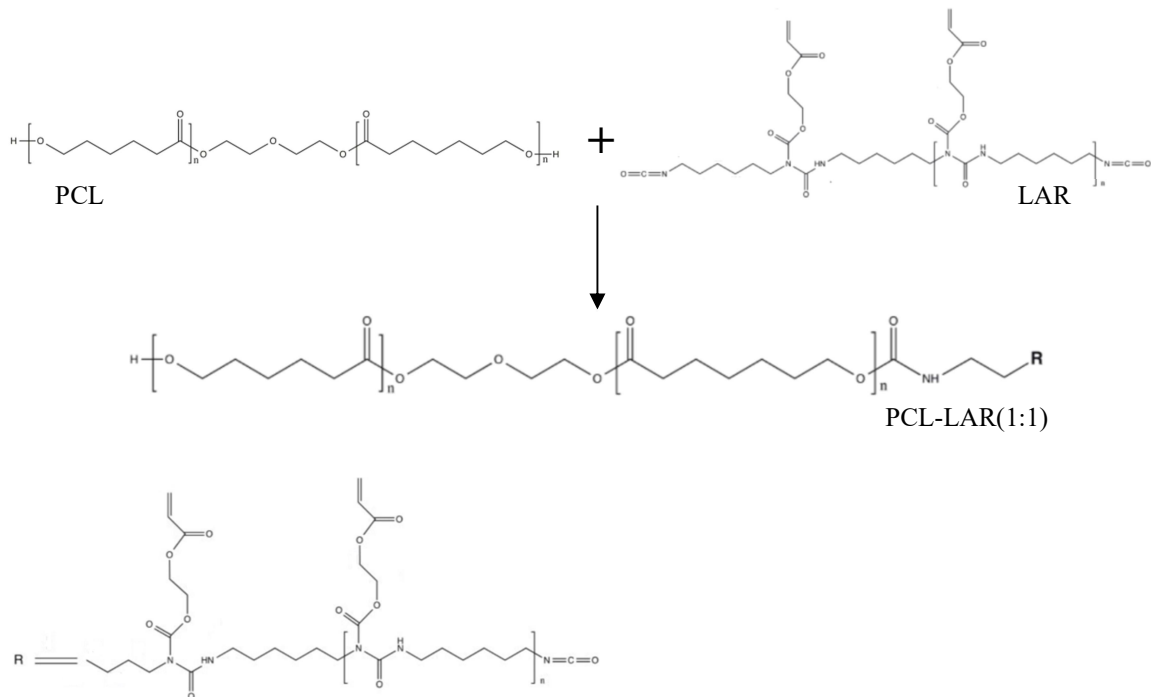


Figura 11. Representação esquemática da reação da PCL com LAR na proporção de 1 mol de PCL para 1 mol de LAR, PCL-LAR(1:1).

Prepolímero OR-LAR(1:3)

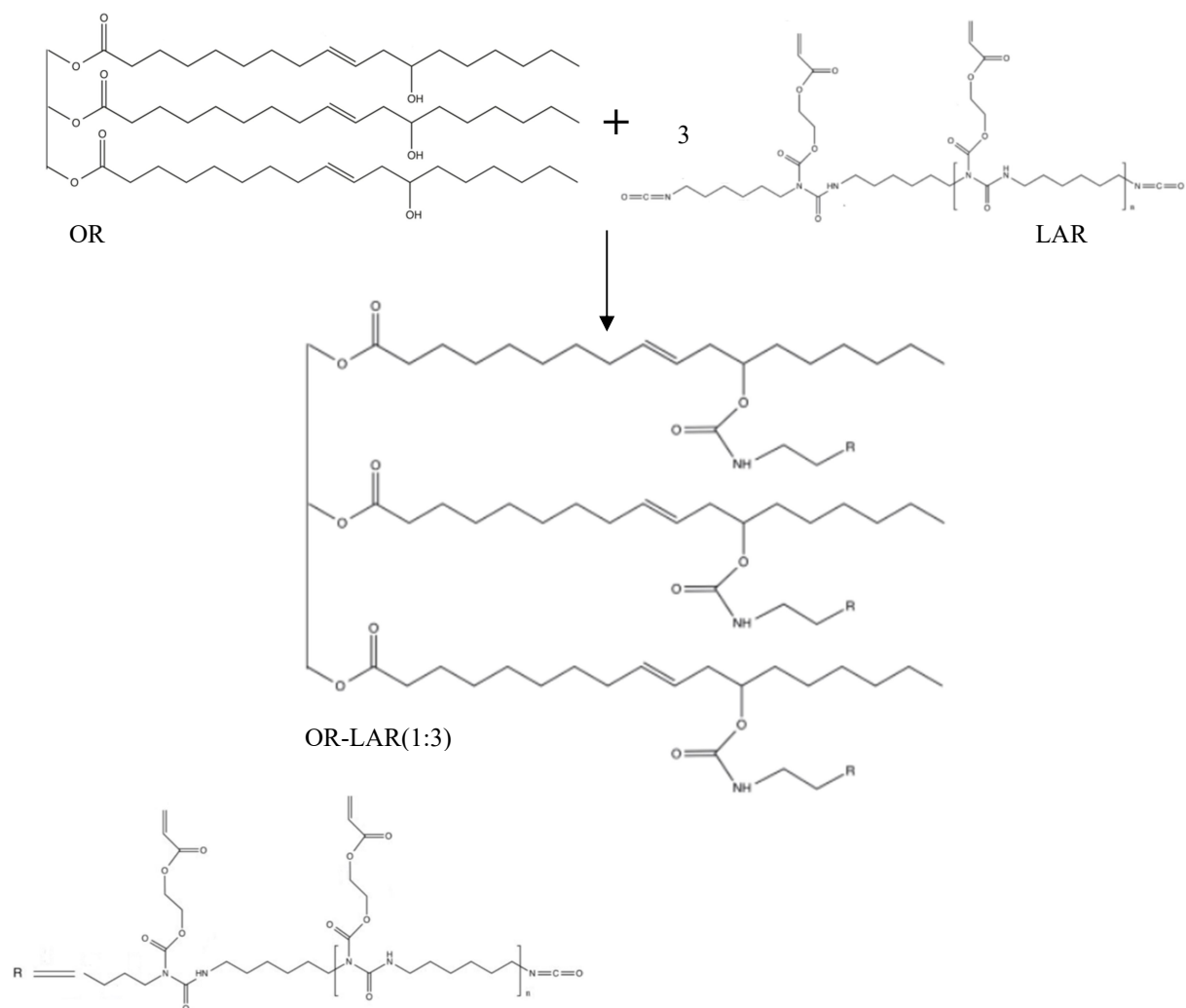


Figura 12. Representação esquemática da reação da OR com LAR na proporção de 1 mol de OR para 3 moles de LAR, OR-LAR(1:3).

Prepolímero OR-IEMA(1:3)

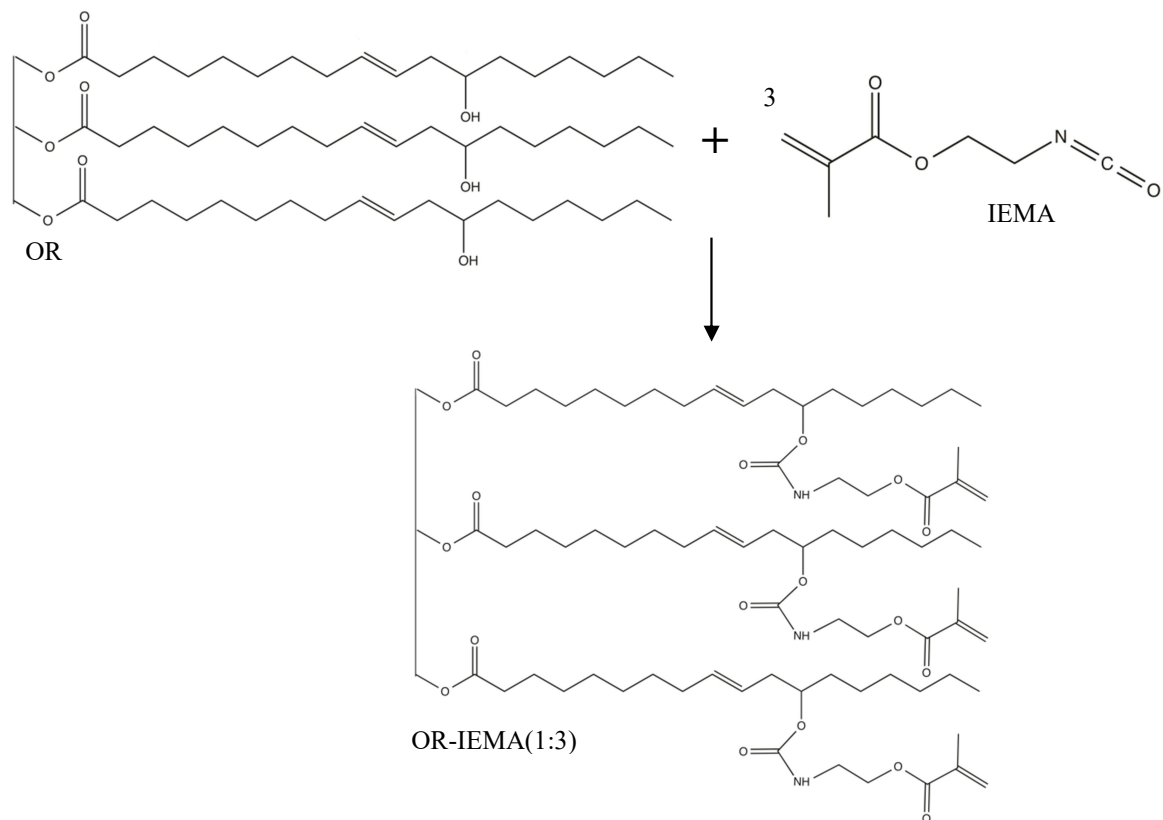


Figura 13. Representação esquemática da reação da OR com IEMA na proporção de 1 mol de OR para 3 moles de IEMA, OR-IEMA(1:3).

Para uma melhor análise dos materiais desenvolvidos, na Figura 14 é possível analisar a aparência visual de cada material.

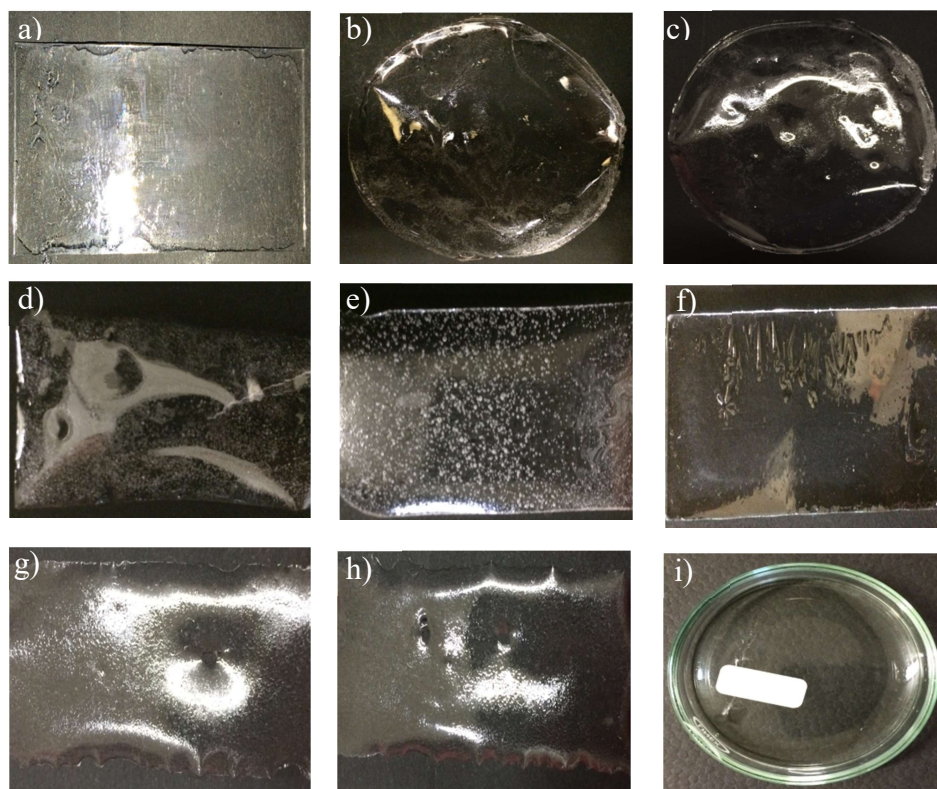


Figura 14. Fotografias dos adesivos desenvolvidos após irradiação UV: a) PCL-IEMA(1:2); b) PCL-LAR(1:1); c) PCL-LAR(1:2); d) OR-PCL-LAR(25/75); e) OR-PCL-LAR(10/90); f) OR-PCL-IEMA(75/25); g) OR-PCL-IEMA(25/75); h) OR-PCL-IEMA(10/90); i) PCL-LAR(1:1) com fármaco incorporado.

3.2. Análise por espectroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada e ressonância magnética nuclear (RMN)

Os prepolímeros sintetizados e os reagentes utilizados para a sua síntese foram primeiramente caracterizados por meio da técnica de ATR-FTIR, de modo a confirmar a eficácia das reações. Os espectros correspondentes aos materiais utilizados encontram-se representados na Figura 15. Pela análise da mesma, foi possível identificar os grupos funcionais presentes em cada composto. No que se refere aos compostos PCL e OR é visível a banda correspondente à elongação dos grupos hidroxilo (OH), na zona de 3448cm^{-1} e 3387cm^{-1} , respetivamente. É igualmente possível visualizar a banda referente à elongação da ligação C=O dos grupos éster, de frequência 1728cm^{-1} na PCL e 1743cm^{-1} no OR. Os monómeros IEMA e LAR são caracterizados pela presença da banda típica correspondente à elongação dos grupos isocianato (NCO), visível na zona de 2259cm^{-1} , em ambos os espectros.

A análise dos espetros correspondentes aos materiais resultantes da modificação da PCL e do OR com os monómeros IEMA e LAR, em diversas proporções, permitiu comprovar a

eficácia das reações, por meio do desaparecimento ou diminuição da banda característica dos grupos hidroxilo da PCL e do OR, bem como dos grupos isocianato do IEMA e do LAR. A identificação de ligações duplas de carbono (C=C), nos espectros dos prepolímeros modificados comprova a inserção destes grupos na estrutura dos prepolímeros, que permitirão a fotoreticulação dos materiais sintetizados.

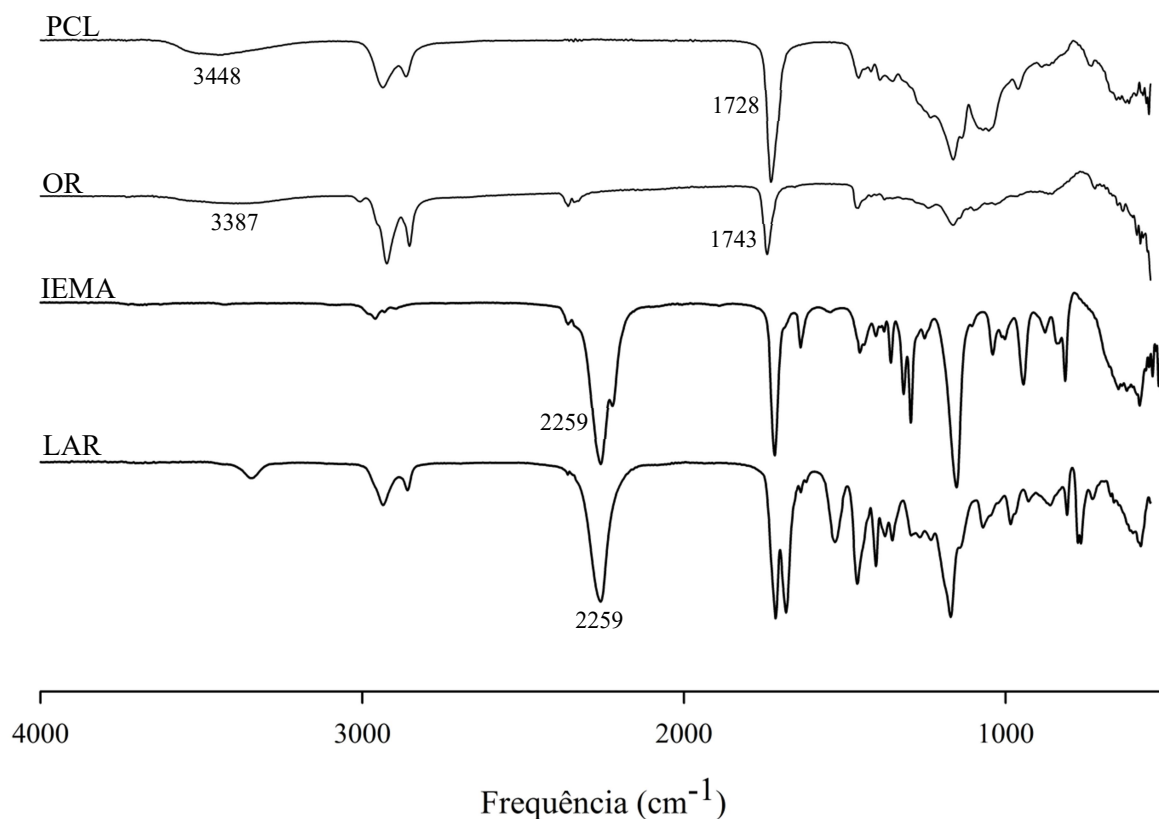


Figura 15. Espectro de ATR-FTIR da PCL, do OR, do IEMA e do LAR.

Ao analisar a Figura 16 foi possível observar que em todos os espectros há um desaparecimento total da banda correspondente à elongação dos grupos OH da PCL e do OR, de frequência 3448cm^{-1} e 3387cm^{-1} respectivamente e uma redução ou desaparecimento da banda referente aos grupos isocianato. No que se refere à modificação dos polímeros PCL e OR com o monómero IEMA constata-se o desaparecimento total da banda típica dos grupos isocianato, comprovando assim, o elevado rendimento destas reações.

Nos espectros referentes aos prepolímeros PCL-LAR(1:2) e OR-LAR(1:3) observou-se em ambos uma pequena redução dos grupos isocianato na zona 2264cm^{-1} na PCL-LAR(1:2) e 2265cm^{-1} no OR-LAR(1:3). No material PCL-LAR(1:1) verificou-se uma redução mais acentuada na zona 2266cm^{-1} , mas não na sua totalidade, mantendo-se assim, a presença de grupos isocianato livres após a reação. Este resultado era previsível perante as proporções

Resultados e Discussão

utilizadas na síntese. Pretende-se que a existência de grupos isocianato livres na estrutura do prepolímero lhe confira uma maior capacidade de adesão à superfície no qual é aplicado, uma vez os grupos isocianato têm capacidade de reagir com grupos amina existentes nas proteínas dos tecidos orgânicos (Ferreira *et al.*, 2011).

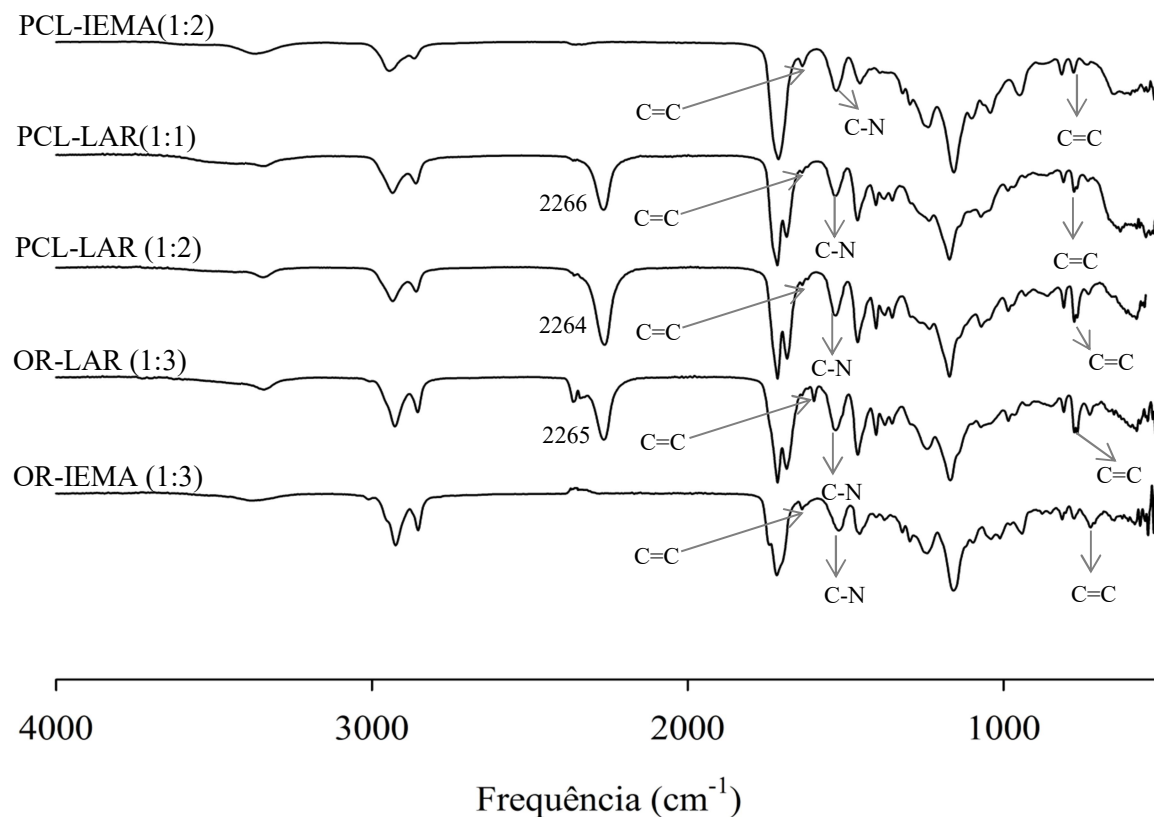


Figura 16. Espectro de ATR-FTIR da PCL modificada com IEMA, PCL-IEMA(1:2) e com LAR, PCL-LAR(1:1) e PCL-LAR(1:2) e OR modificado com LAR, OR-LAR(1:3) e com IEMA, OR-IEMA(1:3).

A identificação de bandas características dos grupos uretana nos prepolímeros modificados permitiu também confirmar a ocorrência da reação entre os grupos hidroxilo e isocianato. Uma das bandas identificadas é correspondente à elongação da ligação C-N e deformação da ligação N-H dos grupos uretana na frequência de 1529cm^{-1} no material PCL-IEMA(1:2), 1531cm^{-1} em PCL-LAR(1:1), PCL-LAR(1:2) e OR-LAR(1:3) e, por fim na zona 1520cm^{-1} no material OR-IEMA(1:3).

A incorporação das ligações duplas de carbono (C=C) nos prepolímeros foi igualmente confirmado, por meio das bandas identificadas na zona de 815 e 1637cm^{-1} na PCL-IEMA(1:2), 809 e 1686cm^{-1} na PCL-LAR(1:1), 808 e 1637cm^{-1} na PCL-LAR(1:2), 808 e 1686cm^{-1} no OR-LAR(1:3) e 813 e 1637cm^{-1} no OR-IEMA(1:3). Após o processo de reticulação fotoquímica dos polímeros modificados, prevê-se um desaparecimento das bandas típicas das ligações duplas de carbono.

Da mesma forma que se analisou a modificação dos polímeros PCL e OR pela técnica de ATR-FTIR, recorreu-se à técnica de RMN para monitorizar a síntese dos prepolímeros. Assim, os espectros de RMN dos prepolímeros PCL-IEMA(1:2), PCL-LAR(1:1), PCL-LAR(1:2), OR-LAR(1:3) e OR-IEMA(1:3) representados nas Figuras 17, 18, 19 e 20, respetivamente, permitiram identificar as estruturas químicas e confirmar a modificação dos polímeros. Analisando as Figuras 17, 18, 19 e 20 foi possível identificar o pico dos grupos isocianato característico dos monómeros IEMA e LAR a cerca de 3,6ppm. O pico identificado entre 3 a 4ppm foi atribuído ao grupo H_2C-OH da PCL. Nos espetros dos prepolímeros verificou-se o aparecimento de um pico entre 3,0 e 3,5ppm correspondente aos grupos uretana resultantes da reação entre os grupos hidroxilo com os grupos isocianato. Nos espetros correspondentes aos monómeros e prepolímeros identificou-se vários picos numa gama de 5,5 a 6,3ppm atribuídos às ligações $HC=C$ existentes na molécula. O pico presente a cerca de 1,5 a 2ppm foi identificado como os grupos $-CH_2$ e $-CH_3$ existentes nos monómeros e prepolímeros sintetizados. Em particular, no espetro do polímero OR e dos prepolímeros de base OR, verificou-se a presença de vários picos entre 4 e 5ppm referentes ao glicerol característico do polímero OR.

Resultados e Discussão

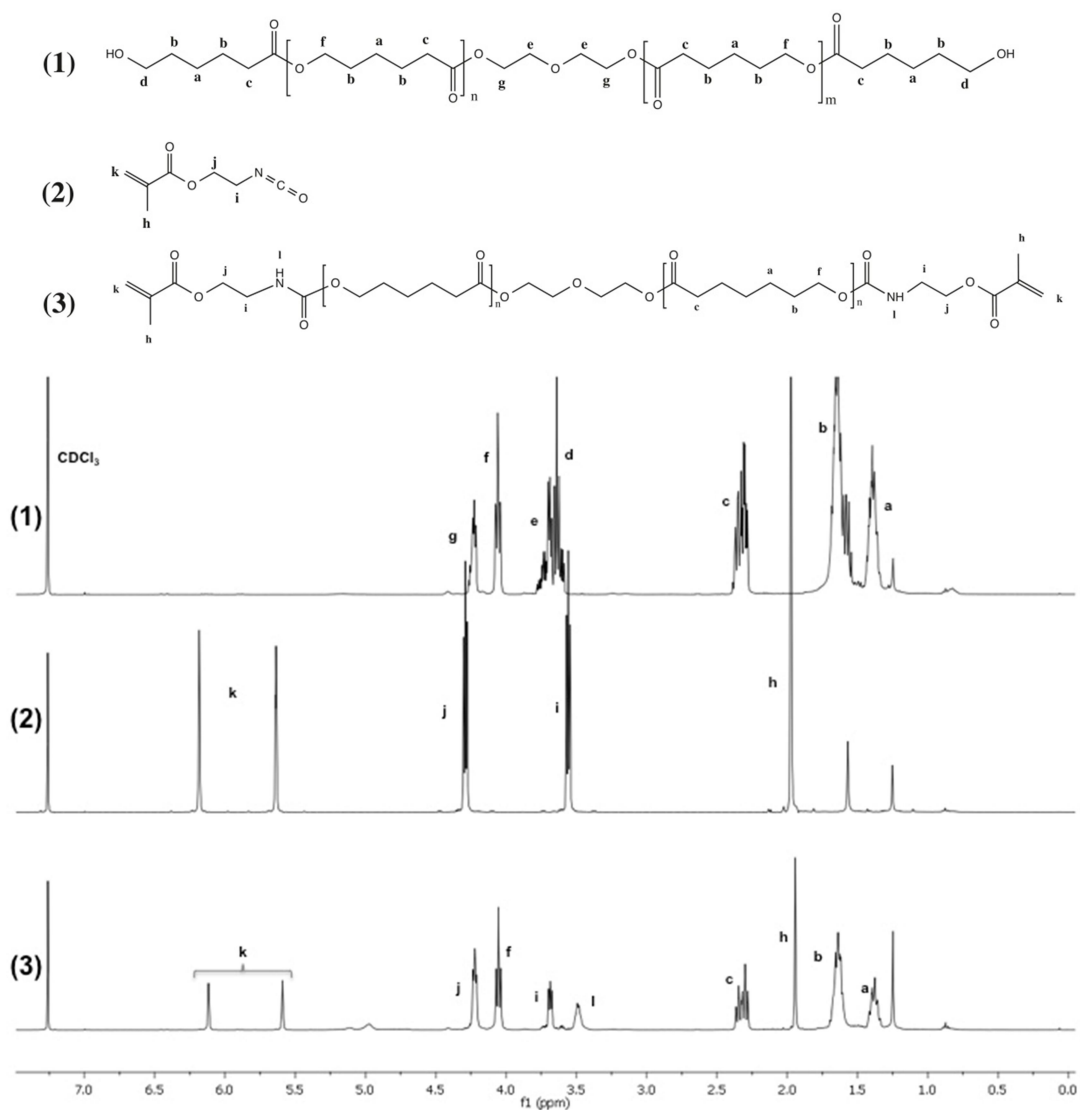


Figura 17. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ da PCL (1); IEMA (2); PCL-IEMA(1:2) (3).

Preparação de Adesivos Cirúrgicos com Ação Farmacológica

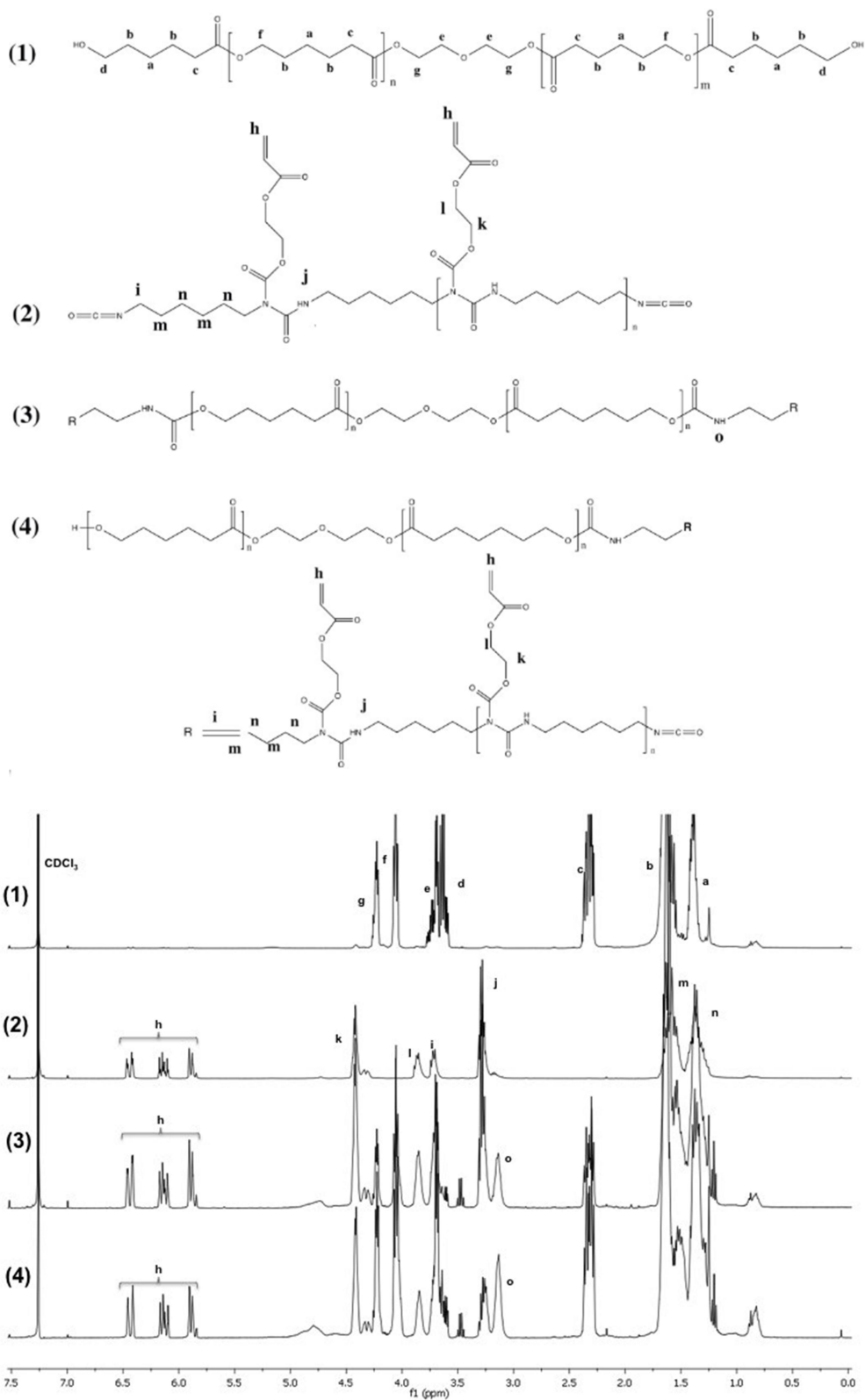


Figura 18. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ da PCL (1); LAR (2); PCL-LAR(1:2) (3); PCL-LAR(1:1) (4).

Resultados e Discussão

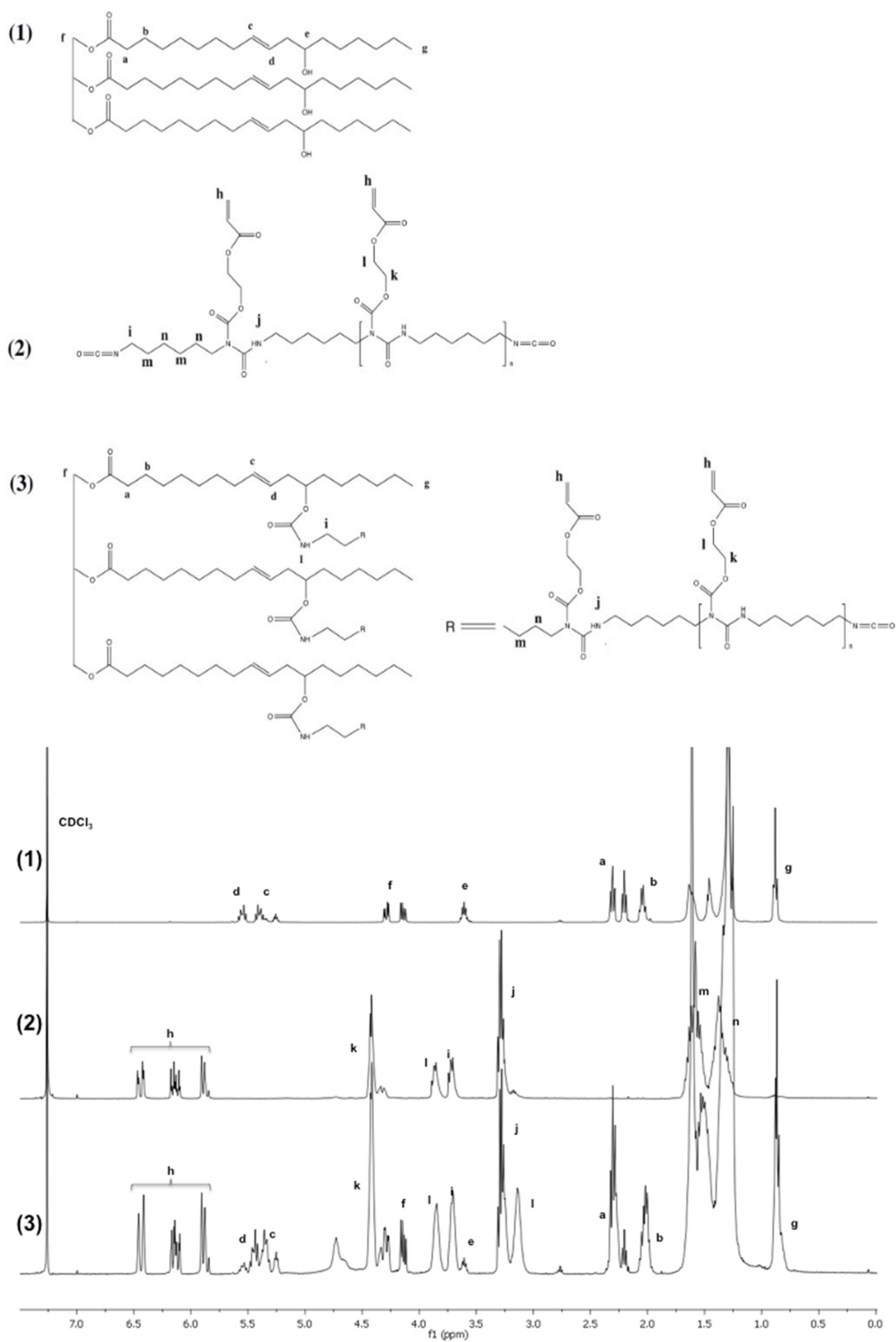


Figura 19. Espectro de ¹H-RMN do OR (1); LAR (2); OR-LAR(1:3) (3).

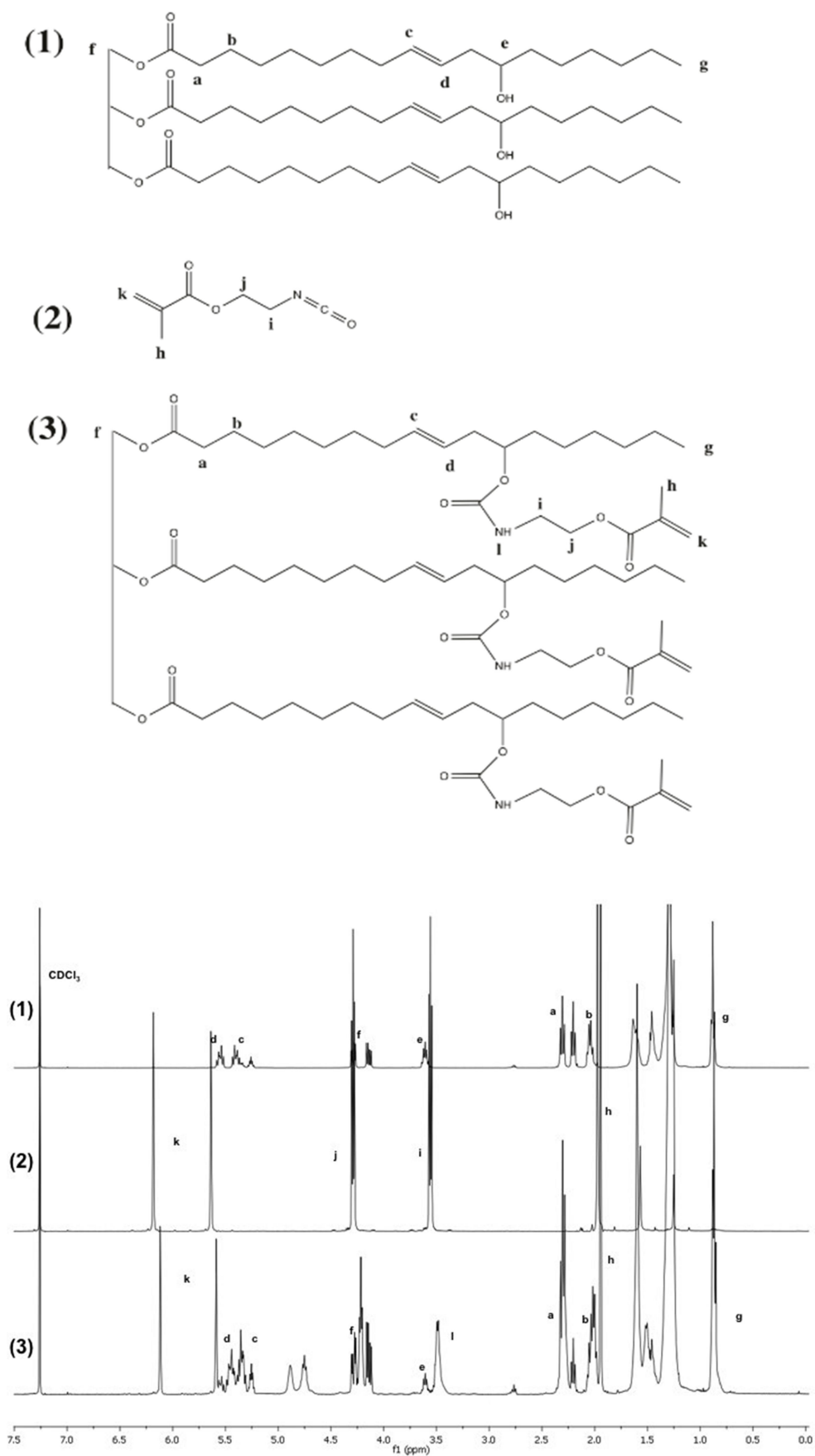


Figura 20. Espectro de ¹H-RMN do OR (1); IEMA (2); OR-IEMA(1:3) (3).

3.3. Avaliação da capacidade de absorção de água

O recurso a adesivos cirúrgicos para o encerramento de incisões deve-se à capacidade dos mesmos auxiliarem o processo de cicatrização por meio da aproximação das extremidades do tecido e assim, promover a reestruturação e reconstituição do tecido. Dado este requisito para este tipo de aplicações, é relevante avaliar a sua capacidade de absorção de água, que corresponde a um aumento de volume do material. Este fator influencia diretamente a eficácia do processo de cicatrização, visto que um aumento do volume dentro de um valor ótimo pode facilitar o processo de homeostasia tecidual, mas em contrapartida um aumento substancial do volume do adesivo pode prejudicar o processo de cicatrização (Cunha, 2008; Ferreira, 2007a). Por meio do estudo da capacidade de absorção de água, visou-se avaliar a hidrofiliabilidade de cada material sintetizado, que é influenciada por diversos fatores, como os grupos terminais da cadeia polimérica, o pH do meio no qual está inserido, a porosidade da superfície e geometria do polímero (Almeida, 2010; Cunha, 2008).

Como referenciado na seção 2.3.3., a capacidade de absorção de água referente a 6 semanas de incubação de cada material foi determinada por meio da Equação 1. Os resultados são apresentados na Figura 21.

Analisando os materiais resultantes da modificação da PCL com LAR nas proporções (1:1) e (1:2), constatou-se que uma maior percentagem deste monómero conferiu aos materiais uma maior capacidade de absorção de água. O monómero LAR é um composto de cadeias relativamente longas, que confere aos materiais uma maior flexibilidade e capacidade de absorção de água (Santos, 2014). Face a influência do monómero LAR no comportamento dos materiais ao nível da sua capacidade de absorção de água, foi relevante comparar os materiais compostos por diferentes monómeros. Assim, analisando os materiais PCL-IEMA(1:2) e PCL-LAR(1:2), foi possível verificar que o primeiro apresenta uma capacidade de absorção de água relativamente inferior, na ordem dos $4,9 \pm 0,8\%$ ao contrário do segundo na ordem dos $7,0 \pm 0,7\%$. A maior capacidade de absorção de água dos materiais compostos pelo monómero LAR, foi igualmente confirmada pela análise dos copolímeros OR-PCL-LAR(10/90) e OR-PCL-IEMA(10/90), visto que o primeiro tem uma percentagem de absorção de água na ordem dos $8,4 \pm 0,1\%$ e o segundo de $6,7 \pm 0,2\%$.

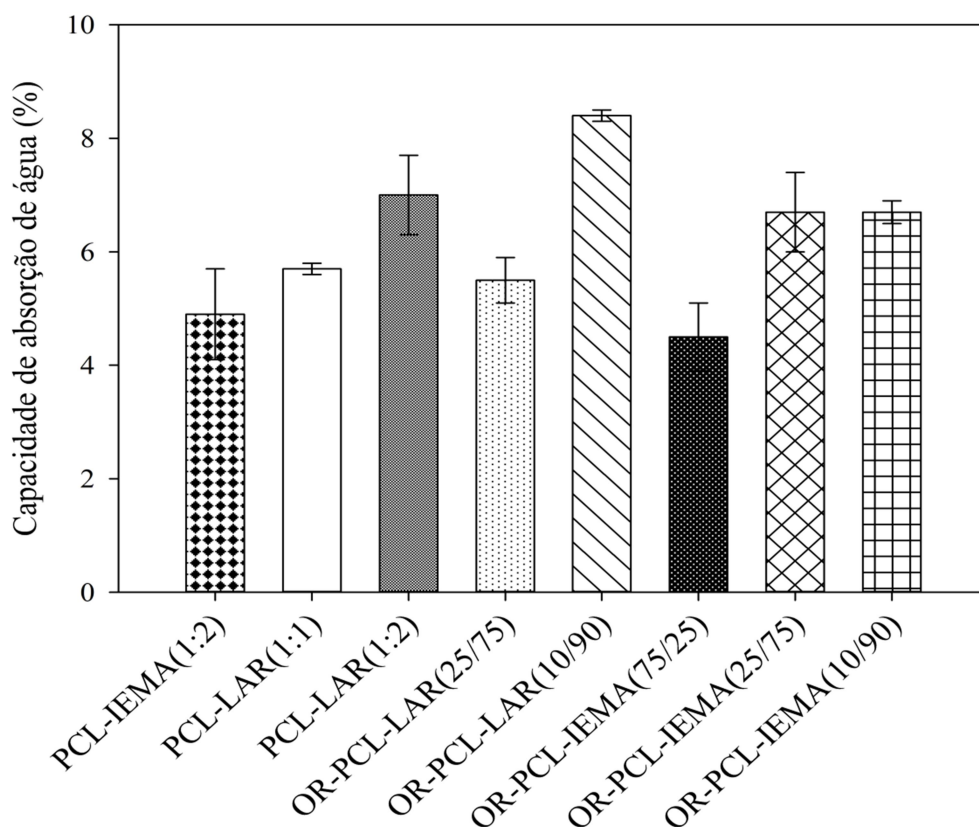


Figura 21. Valores da capacidade de absorção de água (%) de todos os adesivos cirúrgicos desenvolvidos, após 6 semanas de incubação em atmosfera saturada.

Centrando a análise nos copolímeros OR-PCL-IEMA(75/25), (25/75) e (10/90), observou-se que um aumento da percentagem de OR na composição dos copolímeros produzidos, conferiu aos materiais uma menor capacidade de absorção de água, visto tratar-se de um polímero de elevada hidrofobicidade. Este fato foi constatado em vários estudos desenvolvidos até então, nomeadamente por Sathiskumar e Madras na caracterização de poliésteres de base OR, por Yeganeh e Hojati-Talemi no desenvolvimento de poliuretanas à base de OR, bem como por Ferreira no estudo de materiais compostos por OR, no qual a capacidade de absorção de água foi na ordem dos 0%. (Ferreira, 2007a; Sathiskumar e Madras, 2011; Yeganeh e Hojati-Talemi, 2007). Esta tendência foi igualmente observada nos copolímeros OR-PCL-LAR(25/75) e (10/90), onde o primeiro material apresenta uma percentagem de absorção de água de cerca $5,5 \pm 0,4\%$ e o segundo de $8,4 \pm 0,1\%$.

Segundo a literatura, um polímero é classificado como hidrofóbico quando apresenta uma capacidade de absorção de água inferior a 1% ligeiramente hidrofílico quando a percentagem está entre 1 e 10% e por fim, hidrofílico quando o valor é superior a 10% (Cunha, 2008). Logo, tendo por base esta classificação, ao fim de 6 semanas de incubação todos os materiais exibiram um caráter ligeiramente hidrofílico, indicando uma possível

eficiência enquanto complemento ao processo de cicatrização, não danificando os tecidos circundantes durante a sua aplicação *in vivo*.

3.4. Teste de adesão em folhas de gelatina

Uma das propriedades exigida a adesivos para aplicação cirúrgica é a capacidade de adesão aos tecidos vivos, de modo a auxiliar eficazmente o processo de encerramento de incisões e de cicatrização dos tecidos. Para avaliar esta mesma capacidade realizaram-se testes mecânicos de tração para assim determinar a respetiva força máxima de rutura. As soluções de cada material foram aplicadas entre duas folhas de gelatina com a mesma dimensão e de seguida irradiadas com radiação UV de modo a reticular o polímero. Logo que finalizada esta etapa iniciaram-se os ensaios para todos os materiais sintetizados, bem como para uma folha de gelatina sem qualquer polímero, para assim obter um valor controlo. Cada análise foi finalizada com a separação das folhas por rutura ou descolagem. Os valores obtidos para cada adesivo encontram-se representados na Figura 22.

Todos os materiais à exceção do prepolímero PCL-IEMA(1:2) apresentaram resultados satisfatórios no que se refere à sua capacidade de adesão, uma vez que deu-se a rutura das folhas de gelatina nas quais as soluções foram aplicadas, como é possível observar no Anexo H, Figura H.1. De realçar que as amostras preparadas com a solução PCL-LAR(1:2), OR-PCL-IEMA(75/25) e OR-PCL-IEMA(10/90) exibiram forças máximas de ruturas na ordem dos 97,5, 94,4 e 96,1N respetivamente, ligeiramente superiores à apresentada pelo controlo, 89,2N. A amostra preparada com a solução PCL-IEMA(1:2) exibiu uma força de rutura baixa face os restantes materiais, visto que quando sujeito a uma força ascendente da sonda móvel deu-se a separação das folhas de gelatina, como representado no Anexo H, Figura H.1. Este resultado pode dever-se à presença de líquido residual, correspondente a polímero por reticular, que impossibilita uma interação apropriada entre as folhas de gelatina e o adesivo.

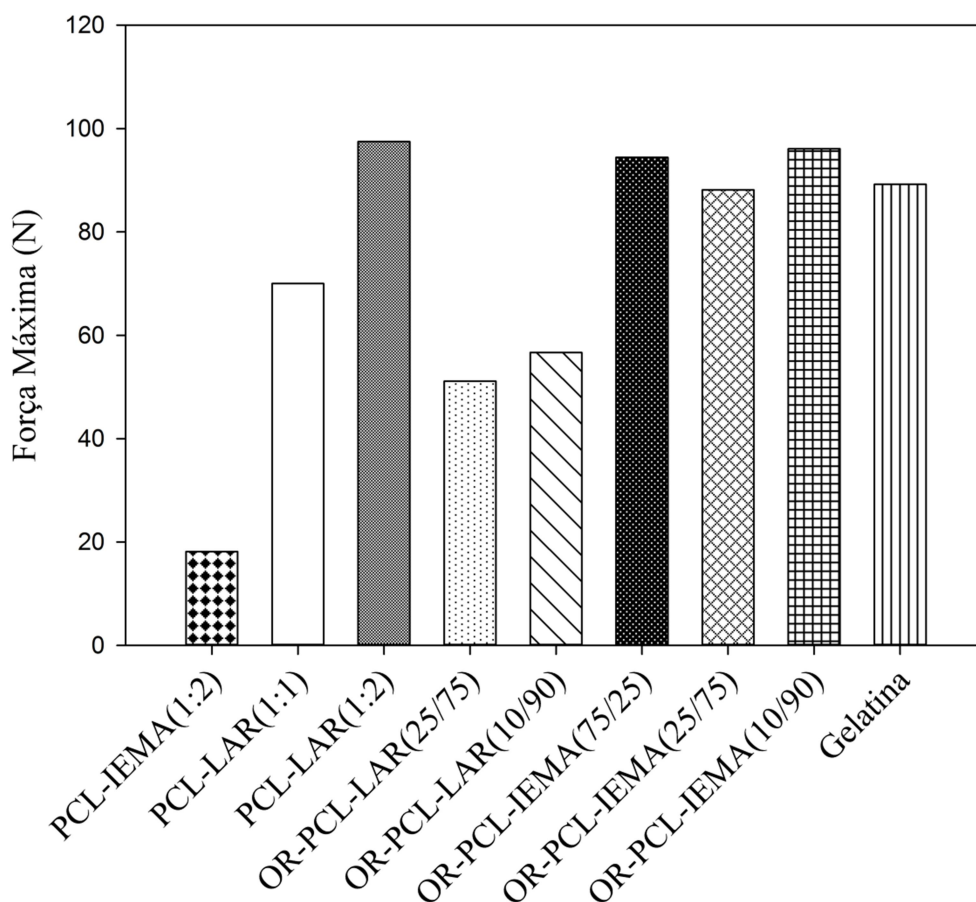


Figura 22. Valores de força máxima (N) registados para rutura ou separação das folhas de gelatina.

Analisando os resultados obtidos para as amostras preparadas com soluções de PCL-LAR(1:1) e PCL-LAR(1:2) constatou-se que uma maior quantidade de LAR proporcionou aos materiais uma maior capacidade de adesão e resistência mecânica, como já verificado por Santos (Santos, 2014). Este fato advém da estrutura polimérica que este monómero apresenta, nomeadamente a presença de grupos isocianato livres que podem ter contribuído para uma maior adesão. Contrariamente ao inicialmente esperado, as soluções correspondentes aos copolímeros com IEMA revelaram uma maior capacidade de adesão à gelatina, quando comparados com as soluções compostas por LAR, indicando uma maior capacidade de interação com o substrato.

Posto isto, constatou-se que o material PCL-LAR(1:2) apresentou uma maior eficácia na adesão às folhas de gelatina, uma vez que apresentou uma força de rutura superior à do controlo. Os restantes materiais, à exceção da PCL-IEMA(1:2) apresentaram igualmente valores satisfatórios no que se refere à capacidade de resistência à força de tração. É no entanto necessário realçar que estes testes são apenas indicativos, considerando que foi apenas

possível efetuar testes para uma amostra de cada material. Torna-se necessário reproduzir este teste utilizando um número de amostras que permita tirar conclusões significativas.

3.5. Determinação das energias de superfície por medição dos ângulos de contacto

Os adesivos cirúrgicos quando aplicados estabelecem contato direto com superfícies como a pele e substratos como o sangue, pelo que o estudo das interações geradas entre o adesivo e a superfície e a consequente capacidade de adesão dos adesivos é fundamental. Este estudo pode ser efetuado por meio da medição de ângulos de contato estáticos (Θ) que possibilita a determinação da energia de superfície, e das respetivas componentes dispersiva (γ_S^D) e polar (γ_S^P) do material (Alves *et al.*, 2014) através de modelos. Neste caso foi aplicado o modelo de *Owens-Wendt-Rabel-Kaelble*. Os valores obtidos para cada um destes fatores, encontram-se apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de energias de superfície e respetivas componentes dispersivas e polares.

Substrato	Energias de superfície e tensões superficiais (mN/m)		
	γ_S	γ_S^D	γ_S^P
Gelatina	44,1 ± 2,3	5,3 ± 0,6	38,9 ± 2,2
Pele	43,7	35,7	8,0
Sangue	47,5	11,2	36,3
PCL-IEMA(1:2)	39,4 ± 2,2	5,3 ± 0,6	3,4 ± 2,6
PCL-LAR(1:1)	34,9 ± 2,0	9,7 ± 0,8	25,2 ± 1,8
PCL-LAR(1:2)	30,4 ± 1,6	15,4 ± 1,0	15,0 ± 1,2
OR-PCL-LAR (25/75)	22,3 ± 1,8	11,5 ± 1,1	10,8 ± 1,4
OR-PCL-LAR (10/90)	29,1 ± 1,6	7,6 ± 0,7	21,5 ± 1,5
OR-PCL-IEMA (75/25)	31,1 ± 2,8	7,4 ± 1,1	23,7 ± 2,6
OR-PCL-IEMA (25/75)	29,2 ± 2,6	2,0 ± 0,5	27,3 ± 2,5
OR-PCL-IEMA (10/90)	31,2 ± 2,4	2,4 ± 0,6	28,8 ± 2,4

Mediante o cálculo das energias de superfície dos adesivos sintetizados é fundamental verificar se estes cumprem o princípio termodinâmico segundo o qual para um material manter a adesão a um substrato, a respetiva energia de superfície deve ser menor ou igual à energia de superfície do aderente (Ferreira, 2007a). Neste estudo, a pele e o sangue consistem nas superfícies com as quais os adesivos estabelecem um maior contato. Como tal é essencial

o conhecimento das respectivas energias de superfície e tensão superficial. A pele apresenta uma energia de superfície de 43,7mN/m (Chen *et al.*, 2002), enquanto o sangue apresenta uma tensão superficial de 47,5mN/m (Thomsen, 2006). Visto que as folhas de gelatina foram utilizadas como substrato nos testes de adesão *in vitro*, a respectiva energia de superfície também foi determinada. Assim, perante a análise dos valores das energias de superfície na Tabela 2, verificou-se que estes são inferiores aos apresentados pela pele e pela gelatina ou da tensão superficial do sangue. Este fato permite concluir que as forças de adesão que se formarão entre os adesivos e os substratos irão ser superiores às forças de coesão, garantido deste modo a proximidade intermolecular entre a superfície de aplicação e o adesivo.

Verificou-se que o prepolímero PCL-LAR(1:1) apresentou uma componente polar superior à apresentada pelo material PCL-LAR(1:2), uma vez que o primeiro exhibe grupos hidroxilo livres, como se verificou na análise do respetivo espetro na seção 3.2., Figura 16, que dão origem a um aumento de interações por pontes de hidrogénio que conseqüentemente aumentam a componente polar da energia de superfície (Alves *et al.*, 2014).

Centrando a análise nos copolímeros desenvolvidos, independentemente do monómero usado na sua modificação constatou-se que uma maior percentagem de OR na composição dos materiais revelou uma componente dispersiva superior e uma conseqüente diminuição na componente polar. Como já reportado no estudo desenvolvido por Ferreira (Ferreira, 2007a). No caso particular dos copolímeros modificados com IEMA, verificou-se que uma diminuição da percentagem de OR origina uma redução do ângulo de contato, como referenciado no trabalho desenvolvido por Sathiskumar e Madras e num outro desenvolvido por Yeganeh e Hojati-Talemi (Sathiskumar e Madras, 2011; Yeganeh e Hojati-Talemi, 2007).

Estes resultados são indicativos da influência da hidrofobicidade do OR. Paralelamente, verificou-se que a utilização de LAR na preparação dos materiais e o aumento da sua percentagem, leva também a um aumento da componente dispersiva. Este efeito é visível tanto nos prepolímeros PCL-LAR(1:1) e PCL-LAR(1:2) como nos copolímeros quando se compara o OR-PCL-LAR(25/75) com o OR-PCL-IEMA(25/75) e o OR-PCL-LAR(10/90) com o OR-PCL-IEMA(10/90).

Os resultados obtidos indicam que a adesão entre os adesivos e as superfícies de sangue e pele irão ocorrer eficazmente, não comprometendo o processo de encerramento de incisões e de cicatrização.

3.6. Propriedades térmicas – TGA e DSC

3.6.1. Análise termogravimétrica

A estabilidade térmica dos diversos materiais foi caracterizada por TGA, com uma taxa de aquecimento de 10°C/min, de forma a definir o perfil de perda de massa de cada material ao longo de uma variação de temperatura até os 600°C. Na Figura 23 apresentam-se os resultados obtidos para os materiais de base PCL e na Figura 24, os copolímeros.

Numa primeira análise verificou-se que a maior perda de massa foi registada entre os 200,0 e os 310,0°C, mas a primeira foi identificada entre os 25,0 e 37,0°C em todos os materiais à exceção do copolímero OR-PCL-IEMA(75/25), podendo corresponder à volatilização do solvente, éter dietílico, cujo o ponto de ebulição é registado aos 35°C. O fato do copolímero OR-PCL-IEMA(75/25) não apresentar nenhuma perda de massa nesta gama de temperaturas, pode dever-se ao fato deste estar devidamente seco, ao contrário dos restantes materiais.

Analisando as Figuras 23 e 24, verifica-se que para os materiais de base PCL, o início da degradação ocorreu acima dos 250,0°C, sendo este valor superior na ordem dos 321,8°C para o composto PCL-LAR(1:1). Esta perda de massa é atribuída à quebra das ligações uretana. Uma outra perda de massa verifica-se entre os 400 e os 500°C e diz respeito às ligações éster, bem como aos grupos isocianato livres. Este fenómeno foi igualmente identificado no perfil do LAR, Anexo I, Figura I.1., confirmando-se a existência de isocianatos na forma livre após a modificação, como verificado anteriormente no espectro de ATR-FTIR, seção 3.2., Figura 16.

No caso dos copolímeros OR-PCL-IEMA(75/25), OR-PCL-IEMA(25/75) e OR-PCL-IEMA(10/90) estes apresentaram também uma outra perda de massa entre os 186,0 e os 200,0°C, que poderá corresponder a segmentos de IEMA, uma vez que o ponto de ebulição deste monómero é registado a 211,0°C.

Centrando a análise nos monómeros utilizados para a modificação, é visível uma maior estabilidade térmica nos prepolímeros e copolímeros modificados com LAR face os materiais modificados com IEMA. Entre todos os materiais, a PCL-LAR(1:1) exibiu uma maior estabilidade térmica.

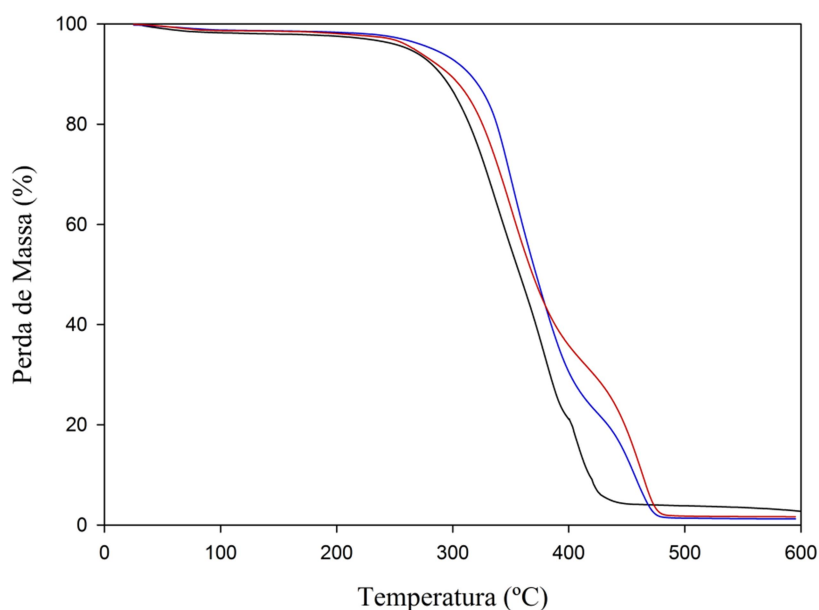


Figura 23. Curvas termogravimétricas dos adesivos PCL-IEMA(1:2) (—); PCL-LAR(1:1) (—); PCL-LAR(1:2) (—) com um fluxo de aquecimento de 10°C/min.

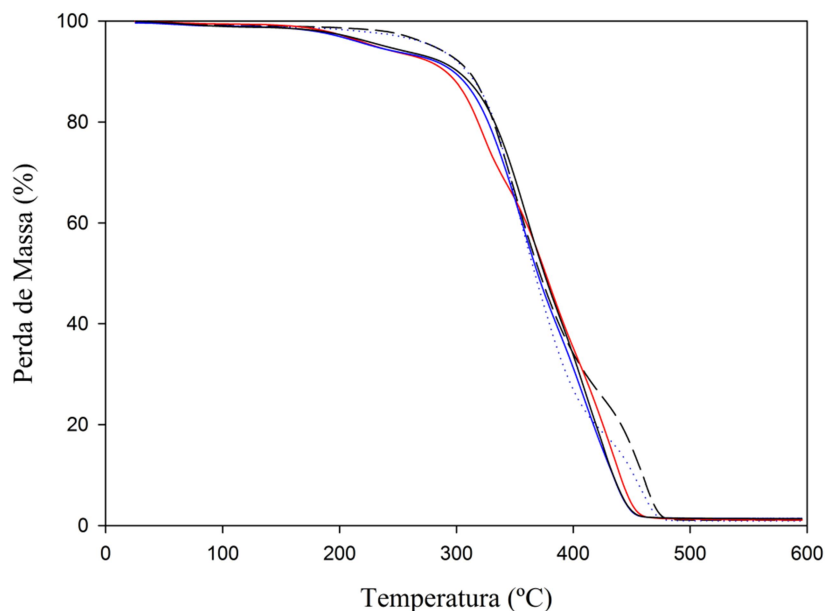


Figura 24. Curvas termogravimétricas dos adesivos OR-PCL-LAR(25/75) (—); OR-PCL-LAR(10/90) (.....); OR-PCL-IEMA(75/25) (—); OR-PCL-IEMA(25/75) (—); OR-PCL-IEMA(10/90) (—) com um fluxo de aquecimento de 10°C/min.

Pela análise das Figuras 23 e 24 verificou-se que quando atingidos os 600°C, a perda de massa de todos os materiais é cerca de 100%. Desta forma, tendo por base o perfil de degradação térmica de cada material e a aplicação biomédica, conclui-se que todos os adesivos serão termicamente estáveis à temperatura fisiológica, 37°C.

3.6.2. Análise por calorimetria diferencial de varrimento

O desenvolvimento de adesivos cirúrgicos requer o estudo térmico do material, de modo a prever o comportamento do mesmo quando sujeito a uma variação de temperatura, nomeadamente quando atingida a temperatura de transição vítrea (T_g) à qual o comportamento mecânico do material sofre alterações. Desta forma, recorreu-se à técnica de calorimetria diferencial de varrimento, com a finalidade de aferir a T_g dos materiais (Tabela 3). Como referenciado na seção 2.3.7. os termogramas obtidos foram analisados por meio do *software TA Universal analysis 2000*, que possibilitou a determinação das várias T_g . Como exemplo, é apresentado no Anexo I, Figura I.2. o termograma do prepolímero PCL-LAR(1:1) e a determinação da respetiva T_g .

Analisando os resultados, foi possível verificar que a maior variação ocorreu entre os materiais de base PCL modificados com IEMA e LAR, originando uma diminuição da T_g de -60°C para -71,1 e -75,1°C, respetivamente. Este fato poderá ser atribuído ao maior tamanho da cadeia de LAR comparativamente ao do IEMA, que deverá após a reticulação atribuir uma maior flexibilidade ao material e como tal diminuir a T_g (Hakala, 2013). Contudo, os valores de T_g determinados foram muito próximos para todos os materiais, não se verificando variações significativas com a composição.

Tabela 3. Temperaturas de degradação e de transição vítrea dos adesivos, determinadas por TGA e DSC, respetivamente.

Materiais	T_d (°C)	T_g (°C)
PCL-IEMA(1:2)	261,3	-71,1
PCL-LAR(1:1)	298,0	-75,1
PCL-LAR(1:2)	266,8	-74,8
OR-PCL-LAR (25/75)	281,6	-75,3
OR-PCL-LAR (10/90)	276,5	-74,5
OR-PCL-IEMA (75/25)	237,3	-75,2
OR-PCL-IEMA (25/75)	272,5	-74,9
OR-PCL-IEMA (10/90)	270,2	-75,8

Em suma, os valores de T_g obtidos para todos os materiais revelaram ser significativamente inferiores e afastados da temperatura fisiológica, logo possíveis alterações no comportamento mecânico do material não irão ocorrer aquando da sua aplicação *in vivo*.

3.7. Teste de degradação

Um dos maiores desafios no desenvolvimento de materiais para aplicação na área biomédica é a sua degradação, nomeadamente para uso temporário. Em particular, os adesivos cirúrgicos devem ser de fácil remoção ou degradados *in vivo* em componentes biologicamente compatíveis ou em produtos que possam ser excretados pelo organismo, logo que finalizado o processo de cicatrização (Almeida, 2010; Coelho *et al.*, 2010; Vainionpää *et al.*, 1989).

A avaliação da perda de massa dos materiais sintetizados foi realizada por incubação dos materiais em PBS a 37°C, para simular o meio no qual irão ser aplicados. A Figura 25 apresenta a percentagem de perda de massa (%) correspondente a cada material, ao fim de 6 semanas de incubação em meio de PBS.

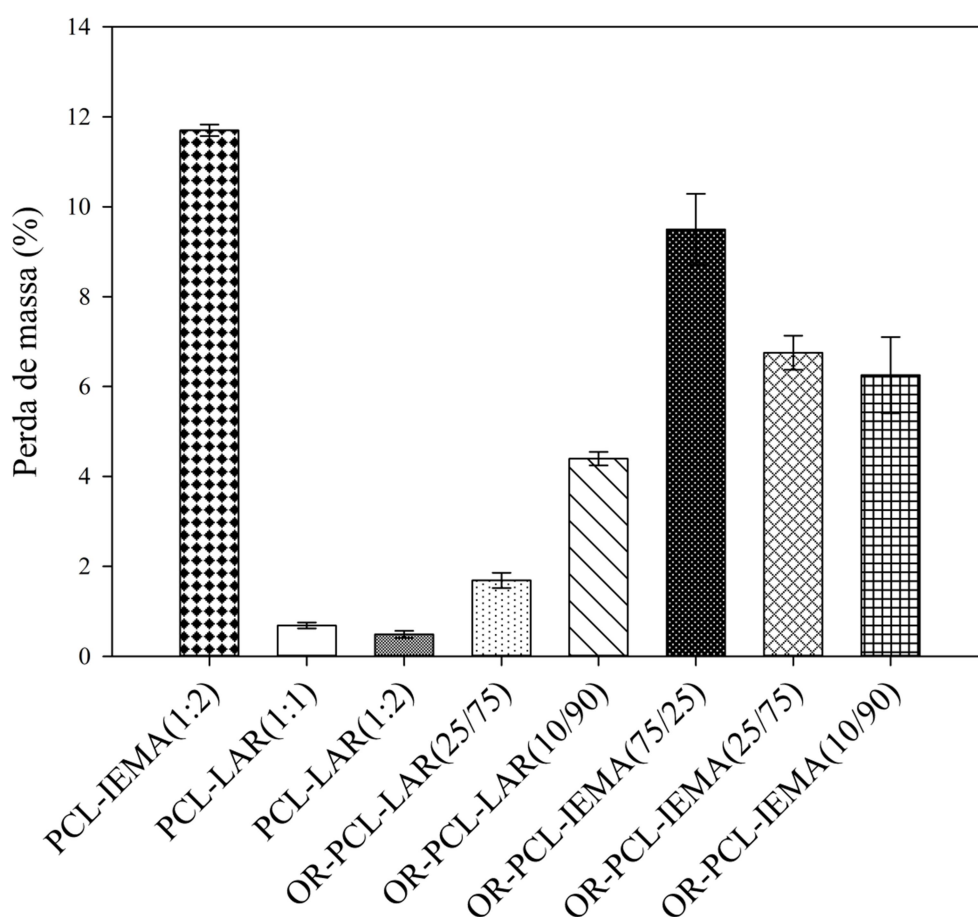


Figura 25. Perda de massa dos materiais (%) após 6 semanas de incubação numa solução de PBS.

Observando a Figura 25, verifica-se de imediato que os adesivos apresentaram perdas de massa significativamente distintas. Verifica-se também que o monómero funcional usado na modificação da PCL influenciou a perda de massa dos adesivos, uma vez que o prepolímero PCL-IEMA(1:2) apresenta uma perda de massa na ordem dos $11,7 \pm 0,1\%$, significativamente superior à apresentada pelos prepolímeros modificados com LAR nas

proporções (1:1) e (1:2), com uma perda de massa de $0,7\pm 0,1\%$ e $0,5\pm 0,1\%$, respectivamente. Tal como reportado por um outro autor (Santos, 2014). Este fato foi igualmente identificado na análise dos copolímeros modificados com IEMA e LAR, visto que os primeiros apresentaram valores de perdas de massa claramente superiores aos dos modificados com LAR.

Analisando em pormenor a perda de massa dos prepolímeros PCL-LAR com proporções distintas, constata-se que os materiais com uma maior proporção de LAR foram os que sofreram menor degradação, visto que os materiais de PCL-LAR(1:2) assumem uma perda de massa de $0,5\pm 7,8\times 10^{-2}\%$ e as de PCL-LAR(1:1) na ordem dos $0,7\pm 0,1\%$. As percentagens de perda de massa relativamente reduzidas que estes prepolímeros apresentam podem dever-se a uma maior resistência da estrutura do LAR à hidrólise, que consequentemente dificulta o processo de degradação. Logo, é evidente a influência do monómero funcional utilizado na modificação da PCL, tal como a proporção aplicada, no processo de degradação.

A influência da composição dos copolímeros apresentou resultados aparentemente contraditórios. O aumento da quantidade de OR na composição estabeleceu um aumento da perda de massa nos copolímeros preparados com IEMA, visto que o OR-PCL-IEMA(75/25), (25/75) e (10/90) apresentaram uma perda de massa na ordem de $9,5\pm 0,8\%$, $6,8\pm 0,4\%$ e $6,3\pm 0,9\%$, respectivamente. Contudo, quando o monómero utilizado foi o LAR, verificou-se o efeito contrário. Uma vez que os copolímeros OR-PCL-LAR(25/75) e (10/90) apresentaram uma perda de massa de aproximadamente $1,7\pm 0,2\%$ e $4,4\pm 0,2\%$, respectivamente. Estes resultados indicam que o OR poderá estabelecer ligações intermoleculares com o LAR originando produtos mais resistentes à degradação.

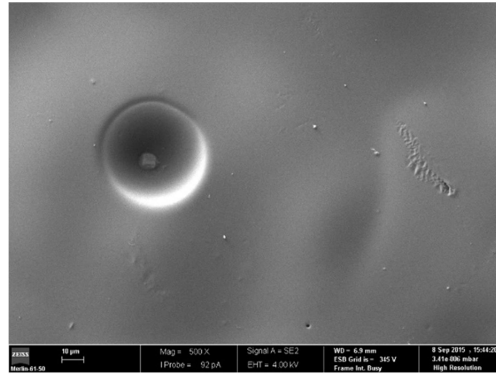
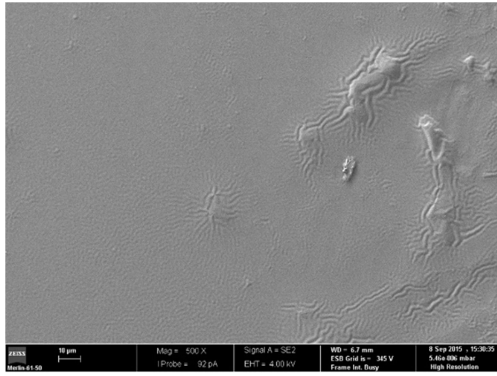
As amostras após o teste de degradação foram observadas por meio da técnica de microscopia eletrónica de varrimento, com a finalidade de observar as modificações ocorridas ao nível da superfície após a incubação (Figura 26). De acordo com as imagens obtidas pela técnica de SEM, não existem alterações significativas na morfologia da superfície das amostras após a incubação. Os materiais produzidos mantêm a sua aparência lisa e mais ou menos uniforme do seu estado inicial, não se verificando a formação de poros visíveis, à exceção do copolímero OR-PCL-LAR(25/75).

Preparação de Adesivos Cirúrgicos com Ação Farmacológica

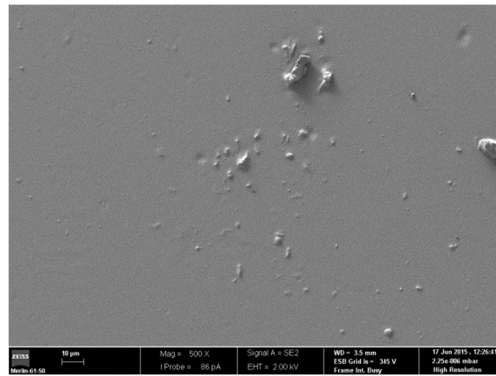
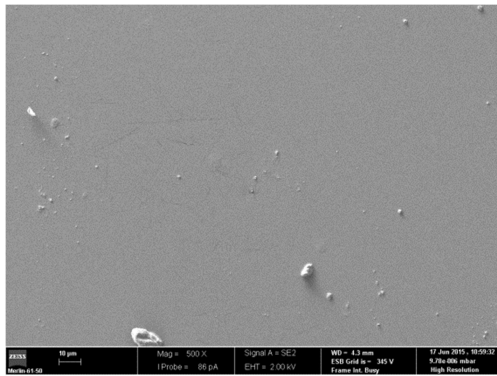
Início

6 semanas

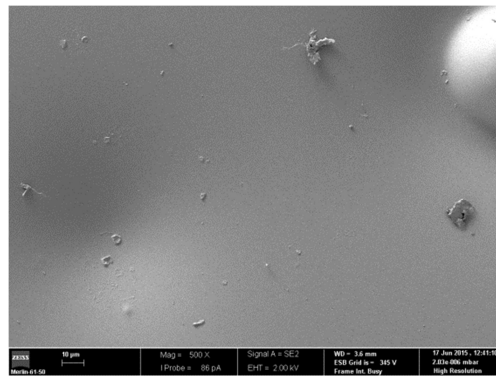
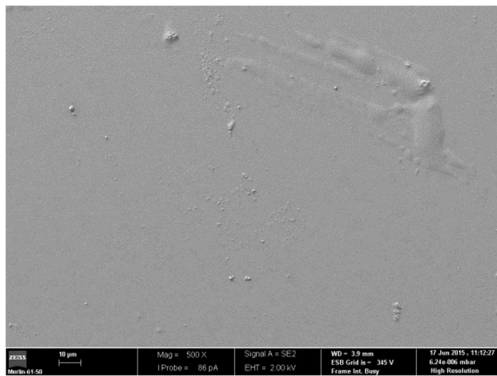
PCL-IEMA(1:2)



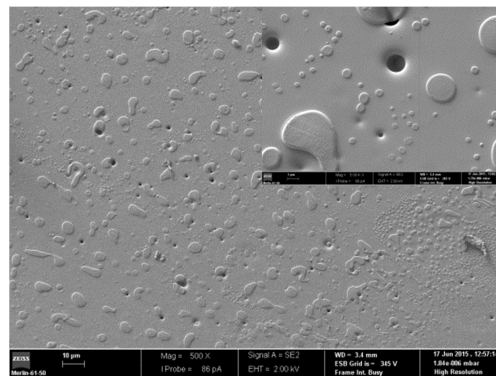
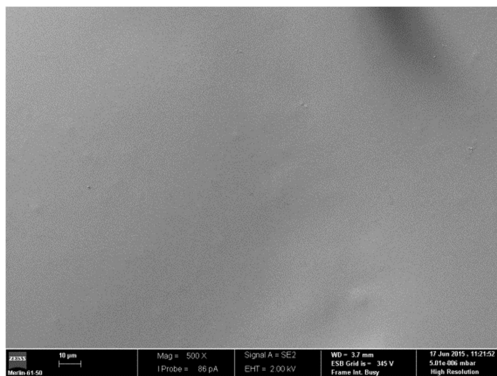
PCL-LAR(1:1)



PCL-LAR(1:2)

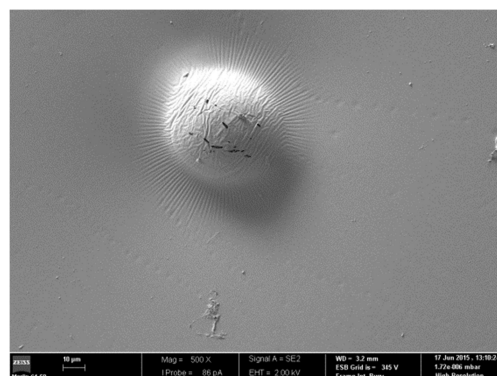
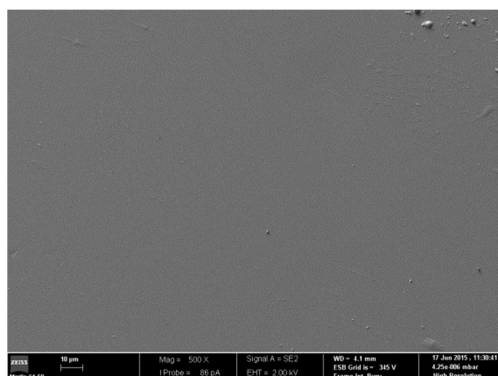


OR-PCL-LAR(25/75)

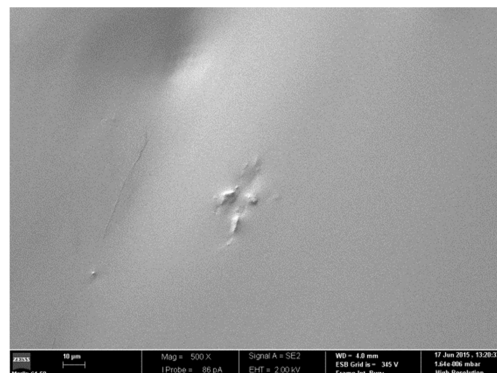
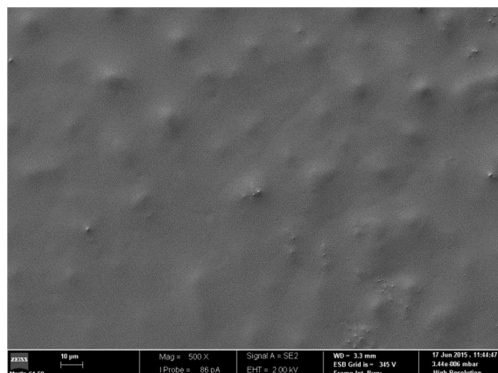


Resultados e Discussão

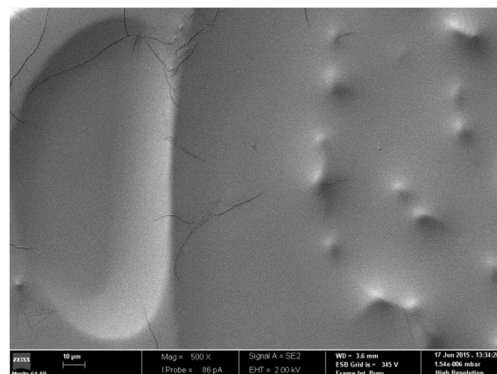
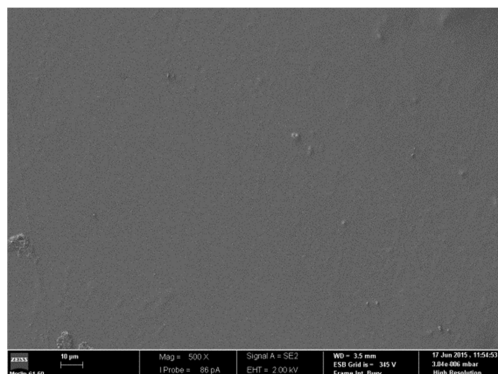
OR-PCL-LAR(10/90)



OR-PCL-IEMA(75/25)



OR-PCL-IEMA(25/75)



OR-PCL-IEMA(10/90)

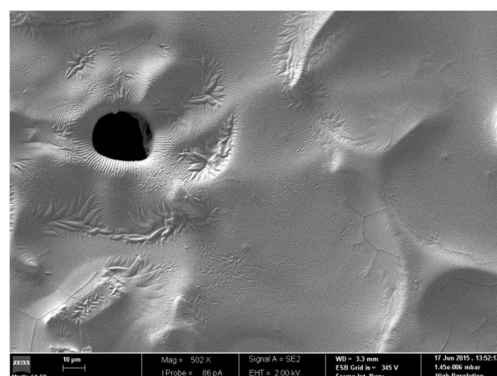
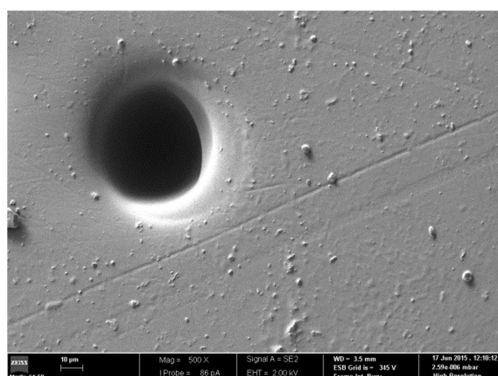


Figura 26. Fotografias de SEM (ampliação 500x e 5000x) da superfície dos adesivos de PCL-IEMA(1:2); PCL-LAR(1:1); PCL-LAR(1:2); OR-PCL-LAR(25/75); OR-PCL-LAR(10/90); OR-PCL-IEMA(75/25); OR-PCL-LAR(25/75); OR-PCL-IEMA(10/90).

Os adesivos sintetizados revelaram perdas de massa relativamente baixas, que se destacam para aplicações de maior durabilidade. De realçar que o perfil exibido pelos materiais durante o teste de degradação é distinto aos obtidos aquando a sua aplicação *in vivo*, visto que existe um conjunto de fatores que contribui igualmente para a degradação dos materiais, como o pH do meio, o local de aplicação, a presença de enzimas, entre outros (Santos, 2014). Assim sendo, este tipo de avaliação poderá ser otimizada utilizando outros meios de incubação, como plasma sanguíneo.

3.8. Hemocompatibilidade

Os adesivos cirúrgicos quando aplicados estabelecem contato direto com substratos como o sangue, que conseqüentemente desencadeia uma sequência de acontecimentos complexos. O primeiro consiste na adsorção de proteínas, que acontece logo de imediato, seguido da adesão de plaquetas e trombose induzida pela superfície (Beugeling, 1979; Hoffman, A. S. 1982; Van Oeveren, 2013; Vladkova, 2013; Williams, 1987). Assim, por meio do estudo da hemocompatibilidade dos adesivos foi possível simular e estudar possíveis respostas do corpo humano a um dispositivo desconhecido (Dee *et al.*, 2002; Park e Bronzino, 2003; Vladkova, 2013).

Este estudo foi desenvolvido segundo a norma *International Organization for Standardization* (ISO) 10993-4, segundo o qual se determinou o índice hemolítico e se estudou a trombogenicidade da superfície. Para este fim utilizou-se sangue de coelho anti-coagulado (sangue-ACD), como descrito na seção 2.3.9.

3.8.1. Determinação do índice hemolítico

A hemólise consiste num processo de destruição da membrana dos glóbulos vermelhos, que pode ser provocada por materiais ou produtos de degradação dos mesmos quando em contato com o sangue, resultando na libertação de hemoglobina para o meio (Santos, 2010). Dada a importância da interação estabelecida entre o adesivo e o sangue, realizaram-se testes para determinar o índice hemolítico dos materiais, cujos resultados se encontram na Figura 27.

Segundo a classificação da norma ASTM F 756-00 descrita na seção 2.3.9 e analisando a Figura 27 constatou-se que em ambos os contatos, os materiais exibiram na sua totalidade carácter não-hemolítico, uma vez que o índice hemolítico assumiu valores inferiores a 2%. Todos os materiais à exceção da PCL-LAR(1:1), (1:2) e OR-PCL-IEMA(75/25) exibiram um

Resultados e Discussão

índice hemolítico maior quando em contato direto com o sangue, como esperado. Estes resultados devem-se ao fato de os materiais após a sua preparação poderem libertar alguns componentes existentes na superfície, como solvente aprisionado na matriz polimérica que poderá induz à hemólise.

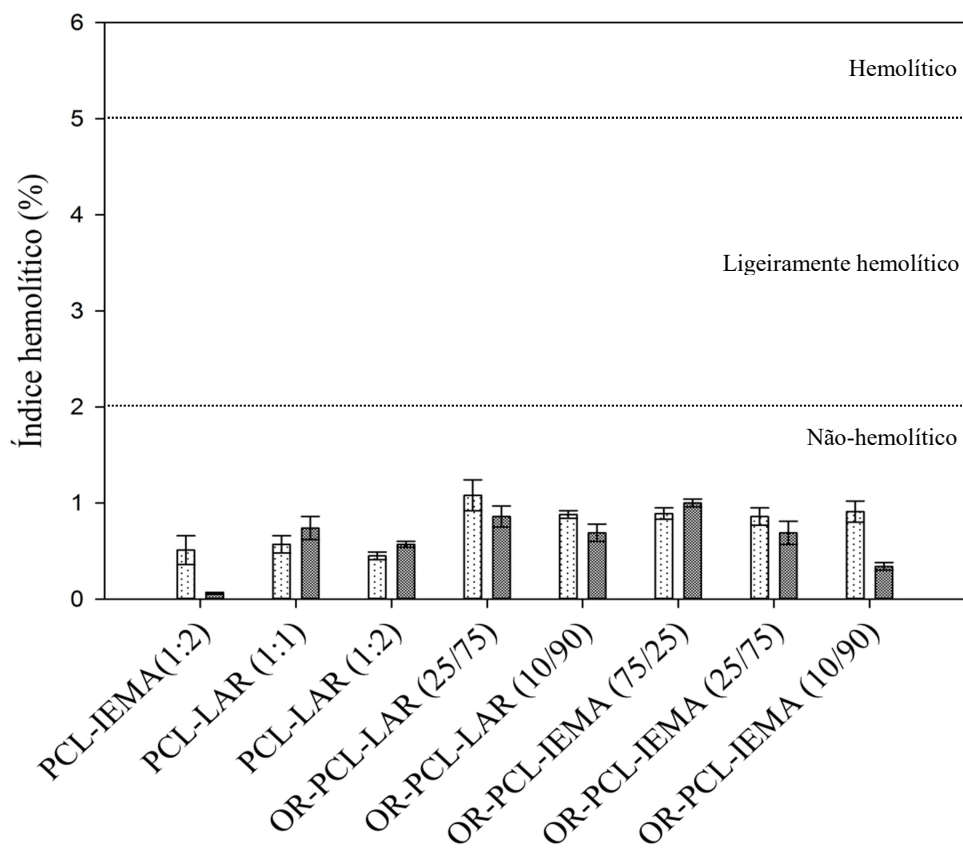


Figura 27. Representação gráfica dos valores de índice hemolítico dos adesivos por contato direto (hachurado) e indireto (pontilhado).

É no entanto de salientar que a diferença de valores de índice hemolítico quando em contato direto e indireto dos materiais não é estatisticamente significativa, com exceção para a PCL-IEMA(1:2).

Face o carácter não-hemolítico apresentado por todos os materiais, a aplicação destes num tecido vivo não irá causar qualquer dano na integridade dos glóbulos vermelhos.

3.8.2. Avaliação da trombogénicidade

Os materiais usados em aplicações farmacêuticas e biomédicas com a finalidade de reduzir ou cessar o fluxo sanguíneo devem apresentar carácter trombogénico. Esta propriedade é desejada nos adesivos cirúrgicos desenvolvidos, de modo a auxiliar o processo de coagulação e de cicatrização do tecido.

Assim, o caráter trombogénico dos adesivos foi avaliado segundo o método gravimétrico de Imai e Nose, descrito na seção 2.3.9. A massa de trombos formados na superfície do material foi determinada após 40 minutos de contato com o sangue-ACD. Na Figura 28 encontram-se representadas as massas de trombos formadas na superfície de cada material, bem como a massa de trombos formada no controlo positivo (superfície de vidro).

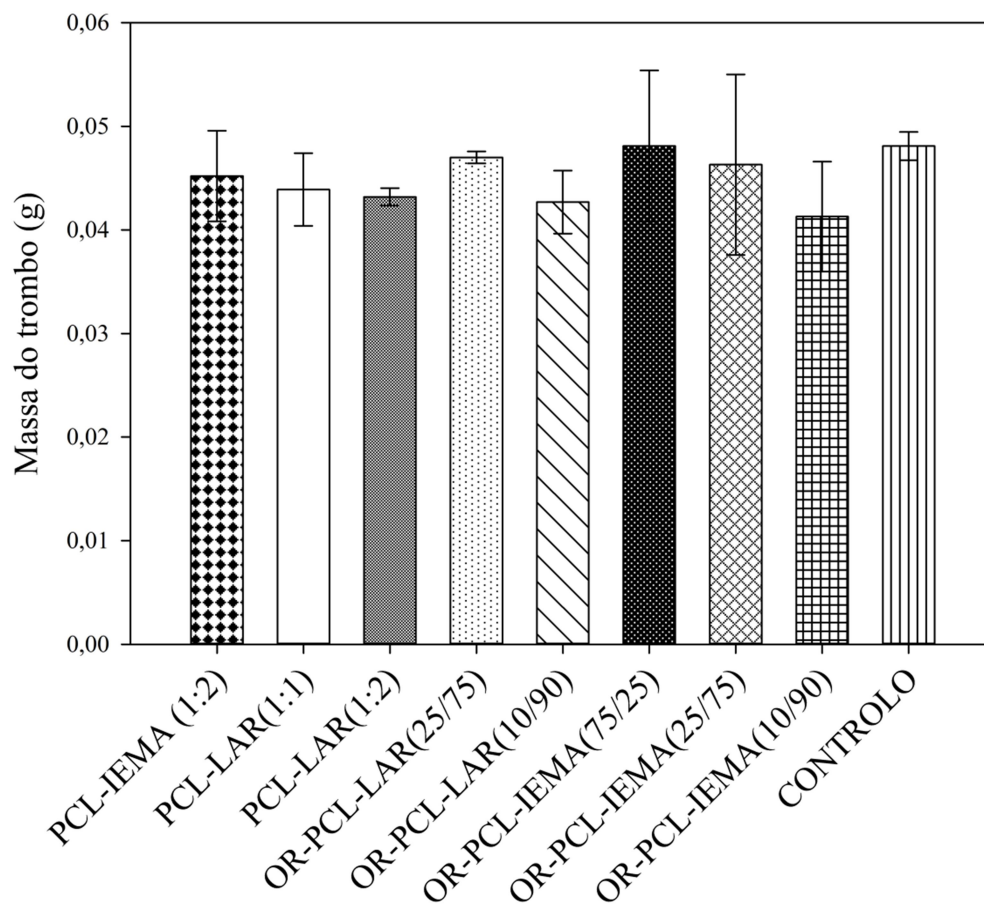


Figura 28. Valores médios de massa de trombos (g) formados após 40 minutos de contato do sangue com as superfícies adesivas e com a superfície de controlo.

Pela análise da Figura 28 constatou-se que a massa de trombos formada na superfície dos adesivos foi próxima da correspondente ao controlo positivo (vidro), pelo que os materiais podem ser classificados como trombogénicos. De realçar que o adesivo OR-PCL-IEMA(75/25) apresentou uma massa de coágulos superior à do controlo positivo, tal como o material OR-IPD desenvolvido por Ferreira (Ferreira, 2007a). Esta diferença não é contudo estatisticamente significativa.

Segundo a literatura, a trombogénicidade de um material está diretamente relacionada com a sua energia de superfície. Pelo que um material com menor energia de superfície leva a uma maior adesão das proteínas e com uma força de ligação maior. Deste modo, o material

apresenta um carácter trombogénico. Os materiais preparados neste trabalho apresentaram valores de energia de superfície relativamente baixos, pelo que se justificam estes valores de trombogénico.

Uma vez determinado o carácter trombogénico dos adesivos produzidos, é evidente que estes materiais são muito promissores enquanto instrumento para o encerramento de incisões e feridas, dada a sua capacidade de interromper o sangramento por consequência da formação de trombos.

3.9. Biocompatibilidade

Os materiais usados na produção de adesivos cirúrgicos são alvo de inúmeros processos de caracterização, sendo um dos fulcrais a avaliação da sua biocompatibilidade. Deste modo foi avaliada a biocompatibilidade *in vitro* dos adesivos desenvolvidos por determinação da viabilidade celular. Paralelamente foi também determinada a sua atividade antibacteriana, utilizando para o efeito a estirpe *S. aureus*.

3.9.1. Estudo da viabilidade celular

O estudo da citotoxicidade dos materiais foi realizado na UBI, por meio de um teste MTS, com a finalidade de avaliar a resposta fisiológica de fibroblastos humanos na presença dos adesivos. As células foram colocadas em contato direto com os adesivos e posteriormente incubados numa solução reagente MTS/PMS durante 24 e 72 horas. No decorrer deste período de tempo as células viáveis têm a capacidade de transformar o MTS num produto *formazan*, dando origem a uma solução azul escura, devido à presença de enzimas mitocondriais (Alves *et al.*, 2014, Cunha, 2008; Lavrador, 2008). A viabilidade celular foi avaliada segundo a leitura da absorvância da solução recolhida, onde o número de células viáveis é proporcional à quantidade de cristais *formazan* produzidos.

De acordo com os valores de viabilidade celular (Figura 29) constatou-se que após contato direto entre os adesivos e as células de fibroblastos, por dois períodos de tempo distintos, todos os materiais revelaram ser biocompatíveis. Os valores apresentados por estes materiais são próximos ao apresentado pelo controlo negativo correspondente a 100% de células viáveis. Em algumas das amostras verificaram-se valores médios de viabilidade celular superiores a 100%. Este fato poderá estar associado à interação entre o próprio material e a sonda de MTS, levando a esta variação no valor da absorvância.

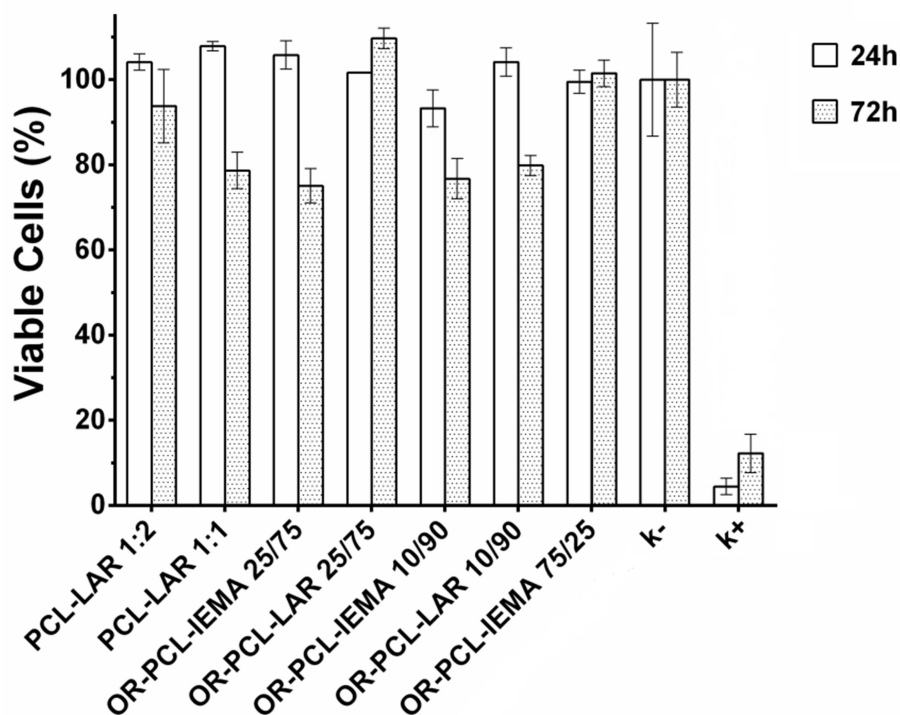


Figura 29. Avaliação da atividade celular depois de 24 e 72 horas em contato com os adesivos. **K-**, controlo negativo; **K+**, controlo positivo.

Entre os vários materiais, os copolímeros OR-PCL-LAR(25/75) e o OR-PCL-IEMA(75/25) apresentaram o melhor desempenho, com valores de viabilidade celular estáveis, após 24 e 72 horas de incubação. De notar que os restantes materiais apresentam uma diminuição nos valores de viabilidade celular às 72 horas, próximo dos 70%, indicando que poderá existir libertação de compostos que induzam à destruição das células. Por esta razão, seria vantajoso repetir estes testes alargando o período de experimentação.

3.9.2. Estudo da atividade antibacteriana

Os biomateriais usados para fins cirúrgicos devem ser produtos livres de microrganismos, mas a implantação de materiais desconhecidos ao organismo pode levar ao aparecimento de infeções e consequentemente danos nos tecidos (Williams, 1987; Trindade, 2013). Para evitar estes problemas são necessários cuidados de esterilização no processo de produção e aplicação desses materiais. A capacidade de inibição de atividade bacteriana dos adesivos cirúrgicos é dificultada pelo contato direto com o sangue, que aumenta o risco de adesão das bactérias à superfície (Taubert *et al.*, 2013). Para avaliar a sensibilidade de uma estirpe microbiana quando em contato com os adesivos, desenvolveu-se um estudo segundo o método de difusão em ágar, utilizando a estirpe *S. aureus*. Esta foi cultivada em placas de ágar e na superfície das mesmas foram aplicados os adesivos desenvolvidos, pelo período de

24 horas, a 37°C. A Figura 30 corresponde às imagens recolhidas logo que finalizado o teste de difusão em ágar.

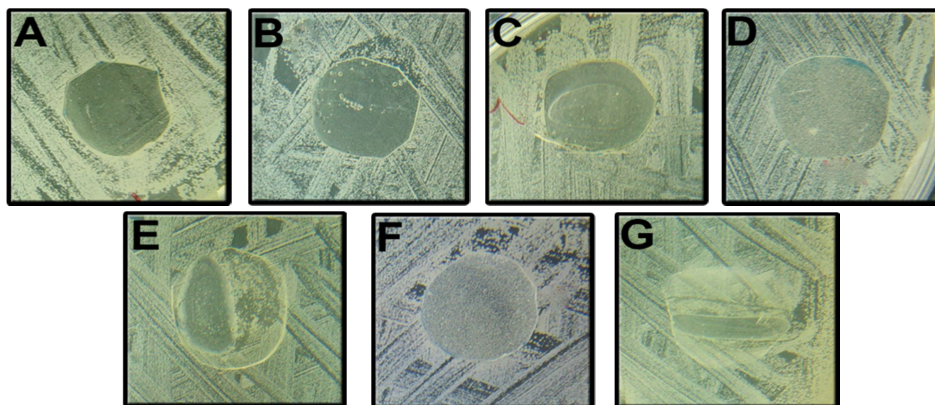


Figura 30. Imagens representativas dos adesivos após contato direto com a bactéria *S. aureus*. **A-** PCL-LAR(1:2); **B-** PCL-LAR(1:1); **C-** OR-PCL-IEMA(25/75); **D-** OR-PCL-LAR(25/75); **E-** OR-PCL-IEMA(10/90); **F-** OR-PCL-LAR(10/90); **G-** OR-PCL-IEMA(75/25).

A ausência de um halo inibitório, a deposição de bactérias na zona circundante e na superfície dos vários materiais, revela de imediato que nenhum dos materiais apresenta potencial antibacteriano. Os valores de energia de superfície relativamente baixos (seção 3.5) e o caráter ligeiramente hidrofílico que os materiais apresentaram (seção 3.3) contribuíram para a proliferação de bactérias na superfície dos materiais. Determinou-se que para a aplicação pretendida, a adição de um fármaco (antibiótico) à composição do adesivo seria uma mais-valia para melhorar este parâmetro.

3.10. Estudo de libertação controlada de fármaco

O estudo em torno do desenvolvimento de adesivos cirúrgicos para o encerramento de incisões não se centra somente na melhoria das propriedades mecânicas e térmicas do material, mas igualmente do seu potencial enquanto sistema de libertação controlada de fármaco, visto ser uma mais-valia na aplicação do dispositivo.

Desta forma foi desenvolvido um estudo de libertação *in vitro* usando o adesivo PCL-LAR(1:1) como sistema de libertação. Para tal, prepararam-se duas amostras deste adesivo com ofloxacina incorporada, numa quantidade equivalente a 1 e 5% da massa de polímero. Na Figura 31 encontram-se representados os perfis de libertação *in vitro*, em solução de PBS dos adesivos de PCL-LAR(1:1), com as duas percentagens de fármaco incorporado. No Anexo G, Tabelas G.2. e G.3., encontram-se apresentados de forma detalhada os resultados obtidos no teste de libertação.

Dados os perfis de libertação obtidos para os materiais com 1 e 5% de fármaco incorporado, constatou-se, ao fim das primeiras 8 horas, a ocorrência de uma libertação relativamente rápida numa fase inicial do teste, denominada *initial burst release*². A ocorrência deste fenómeno resulta da solubilidade da ofloxacina em meio aquoso, que consequentemente dá origem a uma libertação rápida, nomeadamente do fármaco mais à superfície das amostras. O *initial burst release* foi seguido de uma libertação mais lenta do fármaco, tendo-se atingido um máximo às 48 e 96 horas de incubação para o material com 1 e 5% de fármaco, respetivamente. Após o primeiro dia de libertação, constatou-se que ambos perfis começaram a estabilizar, tendo-se verificado uma libertação quase total de fármaco, na ordem dos 95,0% quando incorporado na concentração de 1% no adesivo PCL-LAR(1:1). Para o material PCL-LAR(1:1) com 5% de fármaco, o máximo atingido foi de 52,0%. Possivelmente os restantes 48,0% de fármaco encontravam-se fortemente aprisionados na matriz polimérica, podendo libertar-se aquando da degradação do polímero ou com o seu inchaço após absorção de água. Num estudo desenvolvido por Sahoo e pelos seus colaboradores, foi obtido um perfil de libertação semelhante ao do adesivo PCL-LAR(1:1) com 5% de fármaco, onde um material à base de PCL e quitosano com 10% de ofloxacina incorporada apresentou uma libertação máxima de 78% ao fim de 200 minutos (Sahoo et al., 2009).

Contrariamente ao esperado observou-se que o adesivo com maior quantidade de fármaco libertou menos ofloxacina quando comparado com o material no qual estava incorporada uma menor percentagem de fármaco. Este fato pode resultar de interações entre o fármaco e a matriz polimérica o que reduz a sua difusão.

O estudo de incorporação de fármaco e de libertação foi dificultado pela seleção do fármaco, uma vez que um dos critérios de seleção do composto ativo foi o comprimento de onda de absorção, para que não interferisse no processo de fotoreticulação dos materiais, visto que o fotoiniciador absorve num comprimento de onda de 254nm. Um outro problema identificado foi a necessidade de utilizar um outro solvente para dissolver o fármaco e recorrer a um processo de evaporação. Logo não foi possível aprofundar esta vertente.

² *Initial burst release*: termo utilizado para definir a libertação abrupta de uma grande quantidade de fármaco, na fase inicial do teste de libertação.

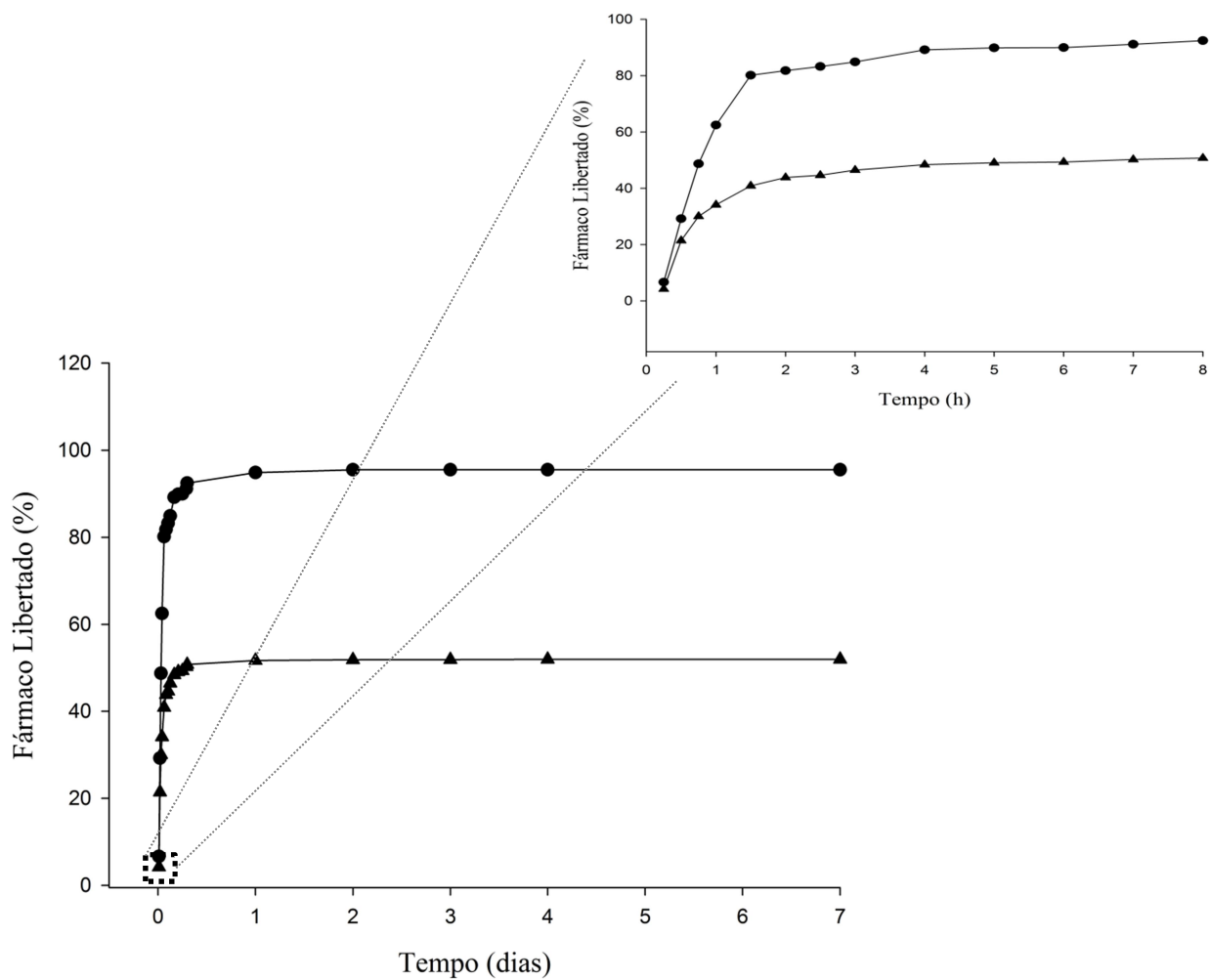


Figura 31. Perfis de liberação de ofloxacina a partir do adesivo PCL-LAR(1:1) com 1% (●) e 5% (▲) de fármaco incorporado.

Na Tabela 4 encontram-se compilados os resultados obtidos ao longo do processo de caracterização.

Tabela 4. Compilação dos resultados obtidos no processo de caracterização.

Propriedades	Materiais							
	PCL-IEMA(1:2)	PCL-LAR(1:1)	PCL-LAR(1:2)	OR-PCL-LAR(25/75)	OR-PCL-LAR(10/90)	OR-PCL-IEMA(75/25)	OR-PCL-IEMA(25/75)	OR-PCL-IEMA(10/90)
Tempo de reticulação (s)	60	30	60	480	360	540	420	240
Swelling (%)	4,9±0,8	5,7±0,1	7,0±0,7	5,5±0,4	8,4±0,1	4,5±0,6	6,7±0,7	6,7±0,2
Força máxima (N)	18,1	70,0	97,5	51,1	56,7	94,4	88,2	96,1
Energias de superfície (mN/m)	39,4±2,2	34,9±2,0	30,4±1,6	22,3±1,8	29,1±1,6	31,1±2,8	29,2±2,6	31,2±2,4
T_d (°C)	261,3	298,0	266,8	281,6	276,5	237,3	272,5	270,2
T_g (°C)	-71,1	-75,1	-74,8	-75,3	-74,5	-75,2	-74,9	-75,8
Perda de massa (%)	11,7±0,1	0,7±6,5×10 ⁻²	0,5±7,8×10 ⁻²	1,7±0,2	4,4±0,2	9,5±0,8	6,8±0,4	6,3±0,9
Índice hemolítico (%)	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Massa do trombo (g)	4,5×10 ⁻² ±4,4×10 ⁻³	4,4×10 ⁻² ±3,5×10 ⁻³	4,3×10 ⁻² ±8,3×10 ⁻³	4,7×10 ⁻² ±5,8×10 ⁻³	4,3×10 ⁻² ±3,0×10 ⁻³	4,8×10 ⁻² ±7,3×10 ⁻³	4,6×10 ⁻² ±8,7×10 ⁻³	4,1×10 ⁻² ±5,3×10 ⁻³

4. Conclusões

O principal objetivo deste trabalho foi o de desenvolver adesivos cirúrgicos com capacidade de atuar como sistema de libertação controlada de fármaco, por meio da combinação de diferentes compostos. A produção dos materiais iniciou-se com a síntese de prepolímeros de base PCL por modificação com IEMA, com a finalidade de reproduzir materiais desenvolvidos anteriormente para posterior utilização na produção de copolímeros e por modificação com o monómero LAR, por meio de várias proporções. De modo a desenvolver copolímeros para solucionar algumas limitações apresentadas por adesivos de base PCL, como taxas de degradação reduzidas, recorreu-se ao uso de OR, igualmente modificado pelos monómeros IEMA e LAR. Perante todos os materiais sintetizados, numa primeira fase foram selecionados os adesivos que apresentavam melhores propriedades a nível de flexibilidade, tempo de reticulação e resistência. No decorrer deste processo de síntese, a extensão das reações foi desde de logo analisada por meio da técnica de ATR-FTIR, por desaparecimento ou redução dos grupos característicos dos polímeros e monómeros utilizados, bem como pela identificação dos grupos uretana formados por reação dos grupos hidroxilo com grupos isocianato. Pela análise de RMN foi também possível identificar as estruturas químicas e confirmar a modificação dos polímeros.

Os materiais desenvolvidos foram alvo de um processo de caracterização, com a finalidade de avaliar o seu potencial enquanto adesivos cirúrgicos. A avaliação da capacidade de absorção de água foi realizada por incubação dos materiais num recipiente fechado com ambiente saturado, onde os materiais revelaram um caráter ligeiramente hidrofílico, tendo-se atingido um valor máximo de 8,4%. Este estudo permitiu verificar a influência do monómero utilizado, bem como da proporção utilizada do mesmo. O caráter hidrofóbico do OR foi bem visível, pelo decréscimo da percentagem de água absorvida face o aumento de proporção deste polímero no adesivo. Os resultados obtidos revelaram que o volume dos diversos materiais não irá aumentar substancialmente, danificando os tecidos circundantes durante a sua aplicação *in vivo* e o processo de cura não será ineficiente.

Face à necessidade de adesão dos adesivos cirúrgicos realizou-se um estudo de adesão *in vitro*, por meio da aplicação de uma solução em folhas de gelatina, e posterior fotoreticulação. O estudo permitiu determinar as forças máximas de rutura de cada material, no qual todos os materiais à exceção da PCL-IEMA(1:2) apresentaram valores de força de rutura próximos ou até mesmo superiores ao do controlo. Visto que a separação das folhas

ocorreu por rutura da gelatina. Este estudo permitiu constatar a influência da proporção de monómero utilizada na composição dos prepolímeros, tal como do tipo de monómero aplicado.

A determinação das energias de superfície permitiu constatar o cumprimento do princípio termodinâmico, uma vez que os valores das energias de superfícies dos materiais foram menores aos apresentados pelas superfícies aderentes (sangue e pele). Esta análise permitiu verificar o tipo de interações estabelecidas entre o material e o substrato, bem como a influência da proporção de OR e de LAR utilizados nos valores obtidos de componente dispersiva e polar.

A análise termogravimétrica permitiu avaliar a estabilidade dos materiais, quando sujeitos a uma variação de temperatura. A maior perda de massa foi registada entre os 200 e os 310°C, tendo verificado uma maior estabilidade térmica nos materiais sintetizados com LAR quando comparados com os materiais com IEMA. Entre todos os materiais, a PCL-LAR(1:1) exibiu uma maior estabilidade térmica. Dados os resultados obtidos, os materiais são termicamente estáveis à temperatura fisiológica, 37°C. A técnica de DSC foi utilizada para aferir as temperaturas de transição vítrea dos adesivos cirúrgicos, no qual todos os materiais exibiram valores negativos e inferiores aos da PCL. Concluiu-se que à temperatura fisiológica não irá ocorrer qualquer alteração no comportamento mecânico dos materiais.

O teste de degradação dos adesivos por incubação em solução de PBS permitiram aferir a dificuldade de degradação de materiais de base PCL modificados com LAR, visto atingirem no máximo uma perda de massa na ordem dos $0,7 \pm 6,5 \times 10^{-2}\%$. Mas a influência do monómero e a proporção do mesmo durante a síntese dos materiais foi evidente, uma vez que a presença de IEMA deu origem a uma maior perda de massa, mesmo quando aplicada na produção de copolímeros. A produção dos copolímeros à base de PCL e de OR revelou ser uma estratégia viável para diminuir o tempo de degradação de materiais à base de PCL. O maior valor de perda de massa registado entre os copolímeros foi na ordem dos $9,5 \pm 0,8\%$. No entanto, a aplicação externa dos adesivos cirúrgicos desenvolvidos não é comprometida, pois logo que finalizado o processo de cicatrização, o dispositivo poderá ser removido. Para complementar o estudo, amostras dos materiais antes do teste e após 6 semanas de incubação foram alvo de uma análise de SEM, com o intuito de identificar alterações morfológicas na superfície dos materiais após o teste de degradação. Não se verificaram alterações significativas, mantendo-se uma superfície relativamente uniforme e aparência lisa na maioria dos adesivos.

Conclusões

Visto que o sangue é o substrato com o qual o adesivo estabelece um contato direto quando aplicado no tecido vivo, realizou-se um estudo de hemocompatibilidade dos materiais desenvolvidos, por meio de um teste de hemólise e de trombogenicidade. A realização do primeiro teste permitiu determinar o índice hemolítico dos materiais, onde todos revelaram um caráter não-hemolítico, quando estabelecido o contato direto e indireto. O teste de trombogenicidade permitiu constatar que todos os adesivos exibiram caráter trombogénico, propriedade extremamente necessária, uma vez que se pretende que o adesivo tenha a capacidade de provocar a coagulação do sangue. Registou-se a formação de massa de trombos próxima ou até mesmo superior à formada no controlo. Podendo-se concluir que os materiais apresentam capacidade de promover a hemóstase e coagulação do sangue.

A avaliação da biocompatibilidade dos materiais desenvolvidos foi realizada por meio de dois testes: estudo da viabilidade celular e estudo da atividade antibacteriana. O primeiro estudo baseia-se na capacidade de promover o crescimento celular na superfície do material, onde a maioria dos materiais apresentou uma percentagem de viabilidade celular superior à do controlo, nomeadamente quando estabelecido contato durante 24 horas. Os copolímeros OR-PCL-LAR(25/75) e OR-PCL-IEMA(75/25) apresentaram os melhores resultados para os dois períodos de tempo de incubação. A biocompatibilidade dos materiais foi confirmada. Pelo segundo teste analisou-se a capacidade do material inibir o crescimento bacteriano, tendo-se constatado que em todos os materiais não foi identificado qualquer halo inibitório, logo os materiais não apresentaram potencial antibacteriano.

Os perfis de libertação revelaram que os adesivos de PCL-LAR(1:1) com 1 e 5% de ofloxacina incorporada apresentaram um *initial burst release* significativo, correspondendo à libertação de 95% no adesivo com 1% de fármaco incorporado, enquanto no adesivo com 5% a libertação foi de 52% do fármaco incorporado. A libertação significativamente rápida do fármaco incorporado no adesivo PCL-LAR(1:1) com 1% de ofloxacina pode dever-se à presença de ofloxacina na superfície das amostras, resultando numa libertação quase total. Mesmo identificando-se uma libertação acentuada nas primeiras horas do teste dos 5% de fármaco incorporado no adesivo, a percentagem libertada ao fim deste período de tempo não foi total, logo a sua libertação nos restantes dias foi constante.

Os resultados obtidos durante o processo de caracterização revelaram o potencial dos materiais desenvolvidos como adesivos cirúrgicos e sistemas de libertação controlada de fármaco. No entanto, é fundamental realçar que as propriedades apresentadas por estes

Preparação de Adesivos Cirúrgicos com Ação Farmacológica

materiais não são adequadas para todas as superfícies e condições de aplicação, uma vez que as propriedades devem ser adaptadas ao fim pretendido.

5. Perspetivas futuras

Perante os resultados obtidos durante a realização deste estudo, surgiram novas ideias e linhas de trabalho a desenvolver e estratégias para solucionar determinados problemas identificados.

Uma das maiores limitações no uso de biomateriais de base PCL é o extenso período de degradação. No presente trabalho desenvolveu-se copolímeros de base PCL e OR, tendo-se registado um aumento da perda de massa para $9,5\pm 0,8\%$. Mas esta perda foi ainda significativamente baixa, sendo ainda necessário desenvolver mais estudos em torno desta limitação. De modo a tornar a aplicação deste material em períodos de cicatrização reduzidos e em aplicações internas mais eficiente. Uma das estratégias a adotar é o recurso a outros polímeros que confirmam à PCL uma maior degradabilidade.

Os adesivos quando aplicados no tecido ficam expostos a diferentes condições, nomeadamente de humidade. Este fator poderá influenciar a capacidade de adesão dos materiais ao substrato, logo o estudo de adesão do material num ambiente com humidade devidamente controlada revela-se importante.

Os valores obtidos de temperatura de transição vítrea para cada material sintetizado foram relativamente próximos, podendo resultar de um limite de -80°C que o equipamento apresenta, não sendo possível retirar conclusões relevantes. Logo, uma análise por meio da técnica de análise térmica dinâmico-mecânica (*Dynamic-mechanical thermal analysis*, DMTA) revela-se oportuna de modo a obter valores mais conclusivos.

Um teste de interesse a desenvolver é a avaliação da biocompatibilidade *in vivo* por meio da aplicação dos adesivos em diferentes tecidos externos e internos. Para assim estudar as interações entre o tecido e o material, possíveis reações alérgicas e inflamações. Bem como, a capacidade de adesão do material ao tecido e a eficácia no encerramento de incisões.

O processo de síntese de prepolímeros com fármaco incorporado deverá ser otimizado, por meio de um solvente orgânico que promova uma mistura adequada entre o polímero, o monómero e o fármaco. Para assim reduzir o tempo de síntese, manter as condições de operação e evitar o uso de diferentes solventes. Dados os resultados obtidos, o potencial de outros materiais como a PCL-IEMA(1:2), PCL-LAR(1:2) e o OR-PCL-IEMA(75/25), enquanto sistema de libertação controlada de fármaco, deve ser avaliada. Um estudo de

Preparação de Adesivos Cirúrgicos com Ação Farmacológica

biocompatibilidade aos adesivos com fármaco incorporado será igualmente pertinente, para estudar a citotoxicidade e avaliar a capacidade destes em inibirem o crescimento de bactérias.

6. Referências Bibliográficas

Almeida, J. F. S. L. (2010) Preparação e Caracterização de Hidrogéis para Aplicações Biomédicas. Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Alves, P., Cardoso, R., Correia, T. R., Antunes, B. P., Correia, I. J., Ferreira, P. (2014) Surface modification of polyurethane films by plasma and ultravioletlight to improve haemocompatibility for artificial heart valves. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 113, 25-32.

ASTM F 756-00 (2000) American Society for Testing and Materials – Standard Practices for Assessment of Haemolytic Properties of Materials.

Aventis, Beriplast® P/Combi-Set, Fibrin Sealant Set. Disponível em: http://www.cslsurgery.com/international/beriplast/product/pdf/Wounded_Healing_8_9.pdf no dia 14 de Abril de 2015.

Bach, M. (2012). Near Infrared Laser Sensor System for In-Line Detection of Conversion in UV-Cured Polymer Coatings. KIT Scientific Publishing.

Bajpai, A. K., Shukla, S. K., Bhanu S., Kankane S. (2008). Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science* 33, 1088-1118.

Barros, M., Gorgal, R., Machado, A. P., Correia, A., Montenegro, N. (2011). Princípios básicos em cirurgia: Fios de Sutura. *Acta Med Port*, 24(S4): 1051-1056.

Bazaka, K., Jacob, M. V., Crawford, R. J., Ivanova, E. P. (2010) Plasma-assisted surface modification of organic biopolymers to prevent bacterial attachment. *Acta Biomaterialia* 7, 2015-2028.

Benson, R. S. (2002). Use of radiation in biomaterials science. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 191, 752-757.

Beugeling, T. (1979) The Interaction of Polymer Surfaces With Blood. *Journal of Polymer Science: Polymer Symposium* 66,419-428.

Bhatia, S. K., Arthur, S. D., Chenault, H. K., Figuly, G. D., Kodokian, G. K. (2007). Polysaccharide-Based Tissue Adhesives for Sealing Corneal Incisions. *Informa Healthcare USA, Inc.* ISSN: 0271-3683.

Billmeyer Jr, F. W. (1984). *TextBook of Polymer Science*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, USA.

Bouten, P. J. M., Zonjee, M., Bender, J., Yauw, S. T. K., van Goor, H., van Hest, J. C. M., Hoogenboom, R. (2014). The chemistry of tissue adhesive materials. *Progress in Polymer Science*, 39, 1375-1405.

Buchanan, F. (2008) Degradation rate of bioresorbable materials- Prediction and evaluation. *Woodhead Publishing in Materials*. CRC Press, England.

Campos, A. (2004) Blendas de PVC/PCL foto/termo e biotratadas com fungos de solo (*Phanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus fumigatus*). Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas.

Cangemi, J. M. (2006) Biodegradação de Poliuretano Derivado do Óleo de Mamona. Tese de Doutoramento em Ciências (Química Analítica).

Cardoso, R. M. (2012) Modificação superficial de uma poliuretana para preparação de válvulas cardíacas. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Carvalho, C. F., Bruschi, M. L., Evangelista, R. C., Gremião, M. P. D. (2010). Mucoadhesive drug delivery systems. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 46, n.1.

Chemnet. Ofloxacin. Disponível em: <http://www.chemnet.com/cas/pt/82419-36-1/ofloxacin.html> no dia 6 de Agosto de 2015.

Chen, J. Y., Y. X. Leng, X. B. Tian, L. P. Wang, N. Huang, P. K. Chu, P. Yang (2002) Antithrombogenic investigation of surface energy and optical bandgap and hemocompatibility mechanism of Ti(Ta⁺⁵)O₂ thin films. *Biomaterials* 23, 2545-2552.

Chu, C. C., von Fraunhofer, J. A., Greisler, H. P. (1997) *Wound Closure Biomaterials*. CRC Press LLC.

CoSeal[®], Surgical Sealant, Instructions for use. Disponível em: http://www.baxterhealthcare.com.au/downloads/healthcare_professionals/cmi_pi/coseal_pi.pdf no dia 19 de Maio de 2015.

Coelho, J. F., Ferreira, P. C., Alves, P., Cordeiro, R., Fonseca, A. C., Góis, J. R., Gil, M. H. (2010). Drug delivery systems: Advanced technologies potentially applicable in personalized treatments. *EPMA Journal*, 1:164-209.

Coimbra, P. M. A. (2010) *Preparação e Caracterização de Sistemas de Libertação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural*. Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Cohen, B., Shefy-Peleg, A., Zilberman, M. (2013). Novel gelatin/alginate soft tissue adhesives loaded with drugs for pain management: structure and properties. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, Vol. 25, No. 3, 224-240.

Cooper, C. W., Falb, R. D. (1968) *Surgical Adhesives*. Supported by the National Heart Institute of the National Institutes of Health Contract PH43-66-471.

Cunha, A. L. C. P. (2008) *Desenvolvimento de Adesivos Biológicos Biodegradáveis*. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Dash, T. K., Konkimalla, V. B. (2012a) Polymeric Modification and Its Implication in Drug Delivery: Poly- ϵ -caprolactone (PCL) as a Model Polymer. *Molecular pharmaceutics*, 9 (9), 2365-2379.

Dash, T. K., Konkimalla, V. B. (2012b) *Poly- ϵ -caprolactone* based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review. *Journal of Controlled Release* 158, 15-33.

Dee, K. C., Puleo, D., A., Bizios, R. (2002). *An Introduction to Tissue- Biomaterial Interactions*, John Wiley e Sons, New Jersey.

Deng, J., Wang, L., Liu, L., Yang, W. (2009) Developments and new applications of UV-induced surface graft polymerizations. *Progress in Polymer Science* 34, 156-193.

Dinarvand, R., Mahmoodi, S., Farboud, E., Salehi, M., Atyabi, F. (2005) Preparation of gelatin microspheres containing lactic acid- Effect of cross-linking on drug release. *Act Pharm.*55 (1):55-67.

Diwakar, T., Rajat, K. (2010) Preformulative studies for floating tablet of ofloxacin. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*. ISSN:0976-7126.

Domb, A. J., Kumar, N., Ezra, A. (2011) *Biodegradable Polymers in Clinical Use and Clinical Development*. John Wiley e Sons, Inc, New Jersey.

Domb, A. J., Khan, W. (2014) *Focal Controlled Drug*. *Advances in delivery Science and Technology*. CRS Leading Delivery Science and Technology. Springer.

Referências Bibliográficas

- Donkerwolcke, M., Burny, F., Muster, D. (1998) Tissues and bone adhesives- historical aspects. *Biomaterials* 19, 1461-1466.
- Driscoll, P. (2015) Surgical Glues, Sealants, Hemostats and Wound Closure Worldwide Markets. Disponível em: <http://blog.mediligence.com/2015/04/07/surgical-glues-sealants-hemostats-and-wound-closure-worldwide-markets/> no dia 27 de Junho de 2015.
- Dr.Gröbel, UV-Elektronik GmbH. BS-02/BS-03 Spectras.
- Dr.Grobel, UV-Elektronik GmbH. Irradiation Chamber BS-02.
- Duarte, A. P., Coelho, J.F., Bordado, J. C., Cidade, M. T., Gil, M. H. (2011) Surgical Adhesives: Systematic review of the main types and development forecast. *Progress in Polymer Science*, 37, 1031-1050.
- Dunn, D. J. (2003) Adhesives and Sealants- Technology, Applications and Markets, Rapra Technology... ISBN: 1-85957-365-7.
- Dunn, D. L., Phillips, J. (2005) Wound closure manual. Ed: Ethicon Inc.
- Dwan'Isa, J. L., Mohanty, A. K., Misra, M., Drzal, L. T. (2005) Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites. Chapter 25: Biobased Polyurethanes and Their Composites: Present Status and Future Perspective. Taylor & Francis Group.
- Echave, M., Oyagüez, I., Casado, M. A. (2014) Use of Floseal[®], a human gelatine-thrombin matrix sealant, in surgery: a systematic review. *BMC Surgery*, 14:111.
- Edlich, R. F., Panek, P. H., Rodeheaver, G. T., Kurtz, L.D., Edgerton, M.T. (1974). Surgical Sutures and Infection: A Biomaterial Evaluation. *J. Biomed. Mater. Res. Symposium*, No.5 (Part 1), pp. 115-126.
- Eldin, M. S. M., Soliman, E. A., Hashem, A. I., Tamer, T. M. (2012) Biopolymer Modifications for Biomedical Applications. Chapter 20: Infrared Spectroscopy- Life and Biomedical Sciences, Prof. Theophanides Theophile (Ed.), ISBN: 978-953-51-0538-1, InTech.
- Ethicon, Evicel[®] Fibrin Sealant (Human). Disponível em: <http://www.ethicon.com/healthcare-professionals/products/biosurgery/evicel-fibrin-sealant-human> no dia 14 de Abril de 2015.
- Fay, P. A. (2005) Adhesive bonding: Science, technology and applications. Chapter 1: History of adhesive bonding. CRC Press.
- FDA, U.S. Food and Drug Administration. ProGel[™] Pleural Air Leak Sealant - P010047. Disponível em: <http://www.fda.gov/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/DeviceApprovalsandClearances/Recently-ApprovedDevices/ucm199028.htm> no dia 19 de Maio de 2015.
- Feldman, R. P., Goodrich, J.T. (1999). The Edwin Smith Surgical Papyrus. *Child's Nerv Syst*, 15:281-284.
- Ferreira, P. (2007a). Preparação e caracterização de adesivos de base uretana. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.
- Ferreira, P., Pereira, R., Coelho, J. F. J., Silva, A. F. M., Gil, M. H. (2007b) Modification of the biopolymer castor oil with free isocyanate groups to be applied as bioadhesive. *International Journal of Biological Macromolecules* 40: 144-152.
- Ferreira, P., Coelho, J. F. J., Gil, M. H. (2008) Development of a new photocrosslinkable biodegradable bioadhesive. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol.352, 172-181, ISSN 0378-5173.

Ferreira, P., Coelho, J. F. J., Almeida, J. F., Gil, M. H. (2011) Photocrosslinkable Polymers for Biomedical Applications. Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges, Prof. Reza Fazel (Ed.), ISBN: 978-953-307-309-5, InTech.

Ferreira, P., Gil, M. H., Alves, P. (2012) An overview in surgical adhesives, In: Recent Advances in Adhesions Research, Nova Publishers, New York, ISBN: 978-1-62417-447-6.

Floxedol, Folheto Informativo: Informação para utilizador. Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=3519&tipo_doc=fi no dia 3 de Agosto de 2015.

Gabbott, P. (2008) Principles and Applications of Thermal Analysis. Blackwell Publishing.

Geochemical Instrumentation and Analysis, Scanning Electron Microscopy (SEM). Disponível em: http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/SEM.html no dia 18 de Maio de 2015

Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. E., Montero, M. P. (2011) Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. Food Hydrocolloids, 25, 1813-1827.

Gottrup, F., Leaper, D. (2004) EWMA Journal. Chapter 21: Wound healing: Historical Aspects. Vol.4, No2, European Wound Management Association.

Grinstaff, M. W. (2007) Designing hydrogel adhesives for corneal wound repair. Biomaterials, 28, 5205-5214.

Hakala, R. (2013) Crosslinked poly(éster anhydrides) for controlled drug delivery, Doctoral Thesis, School of Chemical Technology, Aalto University, Finland.

HemCon, Medical Technologies Inc. How HemCon Dressings Work. Disponível em: <http://www.hemcon.com/EducationCenter/HowHemConDressingsWork.aspx> no dia 29 de Abril de 2015.

Henkel, Bioadhesives. Disponível em: <http://www.henkelna.com/markets-41.htm?nodeid=8797582327950> no dia 14 de Junho de 2015.

Hoffman, A. S. (1982) Blood - Biomaterial Interactions: An Overview. In Biomaterials: Interfacial Phenomena and Applications. American Chemical Society.

Imai, Y., Nose, Y. (1972) A New Method for Evaluation of Antithrombogenicity of Materials. J. Biomed. Mater. Res, Vol.6, PP. 165-172.

Innocutis, Innocutis Medical Signs Exclusive Marketing Agreement for INSORB Absorbable Skin Stapler. Disponível em: <http://innocutis.com/news/innocutis-medical-signs-exclusive-marketing-agreement-for-insorb-absorbable-skin-stapler/> no dia 3 de Fevereiro de 2015.

Inorb, Absorbable skin stapler. The revolutionary new patient-centric skin closure modality. Disponível em: <http://www.insorb.com/> no dia 3 de Fevereiro de 2015a.

Inorb, Absorbable skin stapler. Disponível em: http://www.insorb.com/insorb_technology/index.html no dia 3 de Fevereiro de 2015b.

ISO 10993-4 (1999) Biological Evaluation of Medical Devices – Part 4: Selection of Tests for Interaction with Blood.

Jackson, M. R. (2001) Fibrin sealants in surgical practice: An overview. The American Journal of Surgery 182, 1S-7S.

Referências Bibliográficas

- Jain, K. K. (2014) Drug Delivery System 2nd edition. Methods in Molecular Biology. Springer Protocols. Humana Press.
- Kim, K. K., Pack, D. W. (2006) Microspheres for Drug Delivery. University of Illinois at Urbana-Champaign.
- Kirsch, M., Ginat M., Lecerf L., Houël R., Loisançe, D. (2002) Aortic Wall Alterations After Use of Gelatin-Resorcinol-Formalin Glue. *Ann Thorac Surg*; 73:642-4
- Kodama, K., Doi, O., Higashiyama, M., Yokouchi, H. (1997) Pneumostatic effect of gelatin-resorcinol formaldehyde-glutaraldehyde glue on thermal injury of the lung: an experimental study on rats. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 11, 333-337.
- Kumari, A., Yadav, S. K., Yadav, S. C. (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 75, 1-18.
- Kuno, N., Fujii, S. (2011). Recent Advances in Ocular Drug Delivery Systems. *Polymers*, 3, 193-221. ISSN 2073-4360.
- Langer, R., Vacanti, J., Carter, D., Borenstein, J. (2007) Biomimetic Nanostructured Medical Adhesives. NSF Nanoscale Science and Engineering Grantees Conference.
- Labet, M., Thielemans, W. (2009) Synthesis of polycaprolactone: a review. *Chemical Society Reviews*, 38(12): 3484-3504.
- Lavrador, I. F. (2008) Desenvolvimento de biomateriais para futura aplicação em medicina regenerativa. Tese de Mestrado em Bioquímica, Universidade da Beira Interior.
- Lazzeri, D., Agostini, T., Figus, M., Nardi, M., Spinelli, G., Pantaloni, M., Lazzeri, S. (2012) The Contribution of Aulus Cornelius Celsus (25 B.C.–50 A.D.) to Eyelid Surgery, *Informa Healthcare USA, Inc. Orbit*, 31(3), 162-167.
- Lipatova, T. E. (1986) Medical polymer adhesives. *Adv. Polym. Sci.* 79:65-93.
- Lugscheider, E., Bobzin, K. (2001) The influence on surface free energy of PVD- coatings. *Surface and Coatings Technology* 142-144; 755-760.
- Mahdavi, A., Ferreira, L., Sundback, C., Nichol, J. W., Chan, E. P., Carter, D. J. D., Bettinger, C. J., Patanavanich, S., Chignozha, L., Ben-Joseph, E., Galakatos, A., Pryor, H., Pomerantseva, I., Masiakos, P. T., Faquin, W., Zumbuehl, A., Hong, S., Borenstein, J., Vacanti, J., Langer, R., Karp, J. M. (2008) A biodegradable and biocompatible gecko-inspired tissue adhesive. *The National Academy of Sciences of the USA*; vol.105, no.7, 2307–2312.
- Mati-Baouche, N., Elchinger, P. H., Baynast, H., Pierre, G., Delattre, C., Michaud, P. (2014) Chitosan as an adhesive. *European Polymer Journal* 60, 198-212.
- Miao S., Wang P., Su Z., Zhang S. (2014) Vegetable-oil-based polymers as future polymeric biomaterials. *Acta Biomaterialia* 10: 1692-1704.
- Mizrahi, B., Weldon C., Kohane, D. S. (2011) Tissue Adhesives as Active Implants. *Studies in Mechanobiology, Tissue Engineering and Biomaterials Volume 8*, pp. 39-56.
- Moon, J. H., Shul, Y. G., Han, H. S., Hong, S. Y., Choi, Y. S., Kim, H. T. (2004) A study on UV-curable adhesives for optical pick-up: I. Photo-initiator effects. *International Journal of Adhesion & Adhesives* 25, 301-312.
- Moulin, D. (1988) A history of surgery. 1st Edition, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Cap. 1, pp. 1-30, ISBN-13: 978-94-010-8008-8.

- Namazi, H., Fathi, F., Heydari, A. (2012) The Delivery of Nanoparticles. Chapter 8: Nanoparticles Based on Modified Polysaccharides, InTech, Croatia.
- Narine, S. S., Kong, X. (2005) Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6th Edition. Chapter 8: Vegetable Oils in Production of Polymers and Plastics. John Wiley Sons, Inc.
- Nie, L., Nicolau, D. P., Nightingale, C. H., Browner, B. D., Quintiliani, R. (1995) In vitro of ofloxacin from a bioabsorbable polymer. *Acta Orthop Scand*, 66(4): 365-368.
- Ninan, L., Monahan, J., Stroshine, R. L., Wilker, J. J., Shi, R. (2003) Adhesive strength of marine mussel extracts on porcine skin. *Biomaterials* 24, 4091-4099.
- Park, J. B., Bronzino, J., D. (2003). *Biomaterials Principles and Applications*, CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Peng, H., Ling, J., Liu, J., Zhu, N., Ni, X., Shen, Z. (2010) Controlled enzymatic degradation of poly (ϵ -caprolactone)-based copolymers in the presence of porcine pancreatic lipase. *Polymer Degradation and Stability* 95, 643-650.
- Peng, Z., Li, Z., Shen, Y. (2012) Influence of Chemical Cross-Linking on Properties of Gelatin/Chitosan Microspheres. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 51: 381-385.
- Petrović, Z. S., Javni I., Ionescu, M. (2013) Biological Oils as Precursors to Novel Polymeric Materials. *J. Renew. Mater.*, Vol. 1, No. 3. DOI: 10.7569/JRM.2013.634112.
- Ofloxacin ratiopharm, Folheto Informativo: Informação para utilizador. Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=33298&tipo_doc=fi no de 3 de Agosto de 2015.
- Ogunniyi, D. S. (2006) Castor oil: A vital industrial raw material. *Bioresource Technology* 97: 1086-1091.
- Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., Lemans, J. E. (1996) *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Academic Press, USA.
- ReSure[®], Sealant. Product Overview. Disponível em: <http://resuresealant.com/overview/> no dia 19 de Maio de 2015.
- Rihova, B. (1996) Biocompatibility of biomaterials: hemocompatibility, immunocompatibility and biocompatibility of solid polymeric materials and soluble targetable polymeric carriers. *Advanced Drug Delivery Reviews* 21, 157-176.
- Rose, J. B., Pacelli, S., El Haj, A. J., Dua, H. S., Hopkinson, A., White, L.J., Rose, F.R.A.J. (2014) Gelatin-Based Materials in Ocular Tissue Engineering. *Materials*, 7, 3106-3135.
- Rushbrook, J. L., White, G., Kidger, L., Marsh, P., Taggart, T. F. (2014) The antibacterial effect of 2-octyl cyanoacrylate (Dermabond[®]) skin adhesive. *Journal of Infection Prevention*; Vol. 15 No.6.
- Sahoo, S., Sasmal, A., Nanda, R., Phani, A. R., Nayak, P.L. (2009) Synthesis of chitosan-polycaprolactone blend for control delivery of ofloxacin drug. *Carbohydrate Polymers* 79, 106-113.
- Sanders, L., Nagatomi, J. (2014) Clinical Applications of Surgical Adhesives and Sealants. *Critical Reviews in Biomedical engineering*, 42(3-4):271-292.
- Santos, R. (2010) Síntese de Materiais Poliméricos para regeneração do Tecido Muscular. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.
- Santos, J. M. C. (2014) Preparação de bioadesivos a partir de ácido láctico. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Referências Bibliográficas

- Sathiskumar, P. S., Madras, G. (2011) Synthesis, characterization, degradation of biodegradable castor oil based polyesters. *Polymer Degradation and Stability*, 96, 1695-1704.
- Seyfert, U. T., Biehl, V., Schenk, J. (2002) In vitro hemocompatibility testing of biomaterials according to the ISO 10993-4. *Biomolecular Engineering* 19, 91-96.
- Silva, L. F. M., Ochsner, A., Adams, R. D. (2011) *Handbook of Adhesion Technology*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Singer, A. J., Hollander, J. E., Blumm, R. M. (2011) *Skin and Soft Tissue Injuries and Infections: A Practical Evidence Based Guide*. People's Medical Publishing House-USA.
- Shaik, M. R., Korsapati, M., Panati, D. (2012) Polymers in Controlled Drug Delivery Systems. *International Journal of Pharma Sciences*. Vol. 2, No.4, 112-116.
- Smith, B. C. (2011) *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, 2nd Edition, CRC Press.
- Smith, R. (2005) *Biodegradable polymers for industrial applications*. Woodhead Publishing Limited. CRC Press.
- Spontón, M., Casis N., Mazo P., Raud B., Simonetta A., Ríos L., Estenoz D. (2013) Biodegradation study by *Pseudomonas* sp. of flexible polyurethane foams derived from castor oil. *International Biodeterioration & Biodegradation* 85: 85-94.
- Spotnitz, W. D., Burks, S. G., Prabhu, R. (2005) Fibrin- Based Adhesives and Hemostatic Agents. *In: Tissue Adhesives in Clinical Medicine*, Ed: James V. Quinn, B. C., Decker Inc., Cap.4.
- Stam, M. A. W., Mulder, C. L. J., Consten, E. C. J., Tuynman, J. B., Buskens, C. J., Bemelman, W. A. (2014) Syllys[®] surgical sealant: a safe adjunct to standard bowel anastomosis closure. *Annals of Surgical Innovation and Research*, 8:6.
- Stuart, B. H. (2002) *Polymer Analysis*, 1st Edition, Analytical Techniques in the Sciences, John Wiley & Sons, Australia.
- Suzuki, S., Ikada, Y. (2012) *Biomaterials for Surgical Operation*. Humana Press. Japan. ISBN 978-1-61779-569-5.
- Tajirian, A. L., Goldberg, D. J. (2010) A review of sutures and other skin closure materials. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 12:296-302.
- Taubert, A., Mano, J. F., Rodriguez-Cabello, J. C. (2013) *Biomaterials surface Science*, Wiley-VCH Verlag GmbH e Co. Weinheim, Germany.
- Tavares, V. A. C. D. B. (2011) *Matrizes de Policaprolactona e Quitosano para aplicação em Engenharia de Tecidos*. Tese de Mestrado em Engenharia Biomédica. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.
- Thermo Nicolet Corporation. Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry, Disponível em: <http://mmrc.caltech.edu/FTIR/FTIRintro.pdf> no dia 10 de Janeiro de 2015.
- Thomsen, F. (2006) Measuring the surface free energy of human skin, KRÜSS Application Note AN252e.
- Trindade, G. F. (2013) *Modificações superficiais em polímeros por feixes iônicos para estudo de biocompatibilidade*. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, Instituto de Física.
- Vainionpää, S., Rokkanen, P., Törmälä, P. (1989) Surgical Applications of Biodegradable Polymers In Human Tissues. *Prog. Polym. Sci.*, Vol. 14, 679-716.

- Van Oeveren, W., Schoen, P., Maijers, C. A., Monnick, S. H., Van Boven, A. J. (1999) Hemocompatibility of Stents. *Progress in Biomedical Research*.
- Van Oeveren, W. (2013) *Obstacles in Haemocompatibility Testing*. Hindawi Publishing Corporation, ID 392584.
- Velnar, T., Bailey, T., Smrkolj, V. (2009) The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular. *The Journal of International Medical Research*, 37:1528-1542.
- Vladkova, T. G. (2013) *Surface engineering of polymeric biomaterials. Chapter 4: Surface Engineering of Blood Contacting Polymeric Biomaterials*, Smithers Rapra Technology.
- Vuocolo, T., Haddad, R., Edwards, G. A., Lyons, R. E., Liyou, N. E., Werkmeister, J. A., Ramshaw, J. A. M., Elvin, C. M. (2011) A Highly Elastic and Adhesive Gelatin Tissue Sealant for Gastrointestinal Surgery and Colon Anastomosis. *J Gastrointest Surg*, 16:744-752.
- Walgenbach, K. J., Bannasch, H., Kalthoff, S., Rubin, J. P. (2011) Randomized, Prospective Study of TissuGlu Surgical Adhesive in the Management of Wound Drainage Following Abdominoplasty. *Aesth Plast Surg*, 36:491-496.
- Weber, C., Coester, C., Kreuter, J., Langer, K. (1999) Desolvation process and surface characterisation of protein nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 194, 91-102.
- Wei, X. W., Gong, C. Y., Gou, M. L., Fu, S. Z., Guo Q. F., Shi, S., Luo, F., Guo, G., Qiu, L. Y., Qian, Z. Y. (2009) Biodegradable poly(ϵ - caprolactone) - poly(ethylene glycol) copolymers as drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*.
- Williams, D. F. (1987) Tissue- Biomaterial interactions. *Journal of Materials Science* 22, 3421-3445.
- Williams, C. G., Malik, A. N., Kim, T. K., Manson, P. N., Elisseff, J. H. (2005) Variable cytocompatibility of six lines with photoinitiators used for polymerizing hydrogels and cell encapsulation. *Biomaterials* 26, 1211-1218.
- Woodruff, M. A., Hutmacher, D. W. (2010) The return of a forgotten polymer: Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science*, 35(10): 1217-1256.
- Xiao, Y., Yuan, M., Zhang, J., Yan, J., Lang, M. (2014) Functional Poly(ϵ -caprolactone) Based Materials: Preparation, Self- Assembly and Application in Drug Delivery. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, Vol.14, 781-818.
- Yari A., Yeganeh H., Bakhshi H., Gharibi R. (2014) Preparation and characterization of novel antibacterial castor oil-based polyurethane membranes for wound dressing application. *J Biomed Mater Res Part A: 102A: 84-96*.
- Yeganeh, H., Hojati-Talemi, P. (2007) Preparation and properties of novel biodegradable polyurethane networks based on castor oil and poly(ethylene glycol), *Polymer Degradation and Stability* 92, 480-489.
- Zilberman, M., Elsner J. (2008) Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *Journal of Controlled Release* 130, 202-215.

Anexos

Anexo A. Suturas absorvíveis e não absorvíveis comercializadas

Tabela A.1. Suturas absorvíveis presentes no mercado e respetiva composição e origem.

Sutura	Material	Origem	Número de Fios	Absorção completa (dias)	Referência
Monocryl®	<i>Copolymer of glycolide and ε-caprolactone</i>	Sintética	Monofilamento	91-119	Monocryl, 2015
PDS®	<i>Polydioxanone</i>	Sintética	Monofilamento	180	Tajirian e Goldberg, 2010
Maxon®	<i>Polytrimethylene carbonate</i>	Sintética	Monofilamento	180-210	Tajirian e Goldberg, 2010
Vicryl®	<i>Polyglactic acid (copolymer of lactide and glycolide)</i>	Sintética	Multifilamento	60-90	Tajirian e Goldberg, 2010; Barros <i>et al.</i> , 2011
Dexon®	<i>Polyglycolic acid</i>	Sintética	Multifilamento	90-120	Tajirian e Goldberg, 2010

Tabela A.2. Suturas não absorvíveis presentes no mercado e respetiva composição e origem.

Sutura	Material	Origem	Número de Fios	Referência
Ethilon®	Nylon 6 e nylon 6,6	Sintética	Monofilamento	Ethilon, 2015; Tajirian e Goldberg, 2010
Dermalon®	Nylon 6 e nylon 6,6	Sintética	Monofilamento	Dermalon, 2015
Prolene®	Poliiolefina linear	Sintética	Monofilamento	Tajirian e Goldberg, 2010; Prolene, 2015
Mersilene®	<i>Polyethylene terephthalate</i>	Sintética	Monofilamento	Tajirian e Goldberg, 2010; Mersilene, 2015
Novafil®	<i>Polybutester</i>	Sintética	Monofilamento	Tajirian e Goldberg, 2010; Novafil™, 2015

Referências citadas neste anexo:

Dermalon®, Dermalon sutures by Covidien. Medline. Disponível em : <http://www.medline.com/product/Dermalon-Sutures-by-Covidien/Z05-PF38197> no dia 9 de Agosto de 2015.

Ethilon® Nylon Suture, Ethicon. Disponível em: <http://www.ethicon.com/healthcare-professionals/products/wound-closure/non-absorbable-sutures/ethilon-nylon> no dia 7 de Abril de 2015.

Mersilene® Polyester Fiber Suture, Ethicon. Disponível em: <http://www.ethicon.com/healthcare-professionals/products/wound-closure/non-absorbable-sutures/mersilene-polyester-fiber> no dia 7 de Abril de 2015.

Monocryl[®] (poliglecaprone 25) Suture, Ethicon. Disponível em: <http://www.ethicon.com/healthcare-professionals/products/wound-closure/absorbable-sutures/monocryl-poliglecaprone-25#!description-and-specs> no dia 7 de Abril de 2015.

Prolene[®] Polypropylene Suture, Ethicon. Disponível em: <http://www.ethicon.com/healthcare-professionals/products/wound-closure/non-absorbable-sutures/prolene-polypropylene#!description-and-specs> no dia 7 de Abril de 2015.

Anexo B. Adesivos cirúrgicos comercializados

Tabela B. 1. Adesivos cirúrgicos de origem natural presentes no mercado e respetiva aplicação.

Produto	Composição	Aplicação
Hemaseel APR (Haemacure Corp.)	Fibronogénio e fibronectina humana, fator XIII humano, trombina bovina e cloreto de cálcio.	Aplicado para estancar sangramentos e como complemento para cicatrização de feridas. (Bouten <i>et al.</i> , 2014).
Tisseel VH (Baxter)	Fibrinogénio, fibronectina e trombina humana, fator XIII humano, aprotinina bovina e cloreto de cálcio.	Complemento às suturas para evitar fugas de ar ou vazamento de fluidos. Adequado na cicatrização de feridas no cólon e cirurgia torácica. (Bouten <i>et al.</i> , 2014; Sanders e Nagatomi, 2014).
Crosseal [®] (Omrix)	Fibrinogénio, trombina e fibronectina humana, fator XIII humano e cloreto de cálcio.	Auxiliar na hemostasia em cirurgia hepática. (Bouten <i>et al.</i> , 2014).
CoStasis [®] (Cohesion Technologies, Inc)	Colagénio bovino e trombina	Proporciona a agregação e adesão de plaquetas e ativa fatores de coagulação. (Duarte <i>et al.</i> , 2011; Sanders e Nagatomi, 2014).
BioGlue [®] (CryoLife)	Albumina e glutaraldeído	Selante vascular de vasos sanguíneos como complemento às suturas. (Sanders e Nagatomi, 2014).
HemCon [®] Bandage Pro	Quitosano	Atua com barreira antibacteriana e usado na hemostasia cirúrgica. (Bouten <i>et al.</i> , 2014).
ProGel [®] (NeoMend)	Solução de albumina de soro humano (HSA) e <i>di-PEG succinimidil succinato</i>	Evitar fugas de ar no tecido pulmonar pós-operatório. (Sanders e Nagatomi, 2014; Bouten <i>et al.</i> , 2014).
Evicel (Ethicon/ Johnson & Johnson)	Fibrina humana	Complemento em diversas cirurgias para controlo de sangramento. (Sanders e Nagatomi, 2014).
Vitagel (Stryker)	Fibrina bovina	Aplicado em procedimentos cirúrgicos como adjuvante de coagulação. (Bouten <i>et al.</i> , 2014).

Tabela B. 2. Adesivos cirúrgicos de origem sintética presentes no mercado e respetiva aplicação.

Adesivos	Composição	Aplicação
CoSeal® (Baxter)	<i>Tetra-succinimidyl and tetra-thiol-derivatized PEG.</i>	Estancar sangramento nos limites da sutura. (Sanders e Nagatomi, 2014).
SprayGel® (Covidien)	<i>Tetra-succinimidyl PEG e tri-lysine amine.</i>	Aplicado em procedimentos ginecológicos e colo-rectal. (Duarte <i>et al.</i> , 2011)
DuraSeal™ (Covidien)	<i>Tetra-PEG-succinimidyl ester e trilylsine amine</i>	Usado no encerramento de incisões em cirurgias vasculares e complemento para sutura em (Bouten <i>et al.</i> , 2014)
TissuGlu®	<i>Lysine di/tri isocyanate-PEG prepolymers</i>	Prevenção da formação de seroma. (Bouten <i>et al.</i> , 2014)
FocalSeal-L (Focal Inc.)	<i>Photopolymerizable PEG-co-poly(lactic acid)/poly(trimethylene carbonate)</i>	Impedir o vazamento de ar do pulmão. (Bouten <i>et al.</i> , 2014)
TissuePatch (TissueMed)	<i>Poly-((N-vinylpyrrolidone)₅₀-co-(acrylic acid)₂₅-co-(acrylic acid N-hydroxysuccinimide ester)₂₅)</i>	Impedir o vazamento de ar em cirurgia torácica e reforçar o encerramento de incisões em tecido moles como completo a suturas. (Bouten <i>et al.</i> , 2014)
OcuSeal (Hyperbranch Medical Technology)	<i>Poly(glycerol succinic acid) e PEG-aldehyde</i>	Lacerações e transplantes de córnea. (Bouten <i>et al.</i> , 2014)
Adherus (Hyperbranch)	<i>Activated PEG e branched poly(ethylene imine)</i>	Aplicações cardiovasculares. (Bouten <i>et al.</i> , 2014)

Anexo C. Propriedades dos reagentes utilizados

Tabela C.1. Lista de reagentes utilizados, respectiva fórmula química, peso molecular e massa volúmica.

Nome da substância	Fórmula química	Peso molecular (g/mol)	Massa volúmica (g/mL)
Policaprolactona diol	$(C_6H_{10}O_2)_n$	530 ⁽¹⁾	1,073 ⁽¹⁾
Metacrilato de 2-isocianoetilo	$C_7H_9NO_3$	155,15 ⁽¹⁾	1,098 ⁽¹⁾
Laromer [®] LR 900	-	578 ⁽¹⁾	1,154 ⁽¹⁾
Óleo de rícino	$C_{57}H_{104}O_9$	928 ⁽¹⁾	0,961 ⁽¹⁾
2-hidroxi-1-[4-(2-hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona ou Irgacure [®] 2959	$C_{12}H_{16}O_4$	224,3 ⁽¹⁾	ND
Éter dietílico	$C_4H_{10}O$	74,12 ⁽¹⁾	0,710 ⁽¹⁾
Etanol	C_2H_6O	46,06 ⁽¹⁾	0,789 ⁽¹⁾
Formamida	CH_3NO	45,04 ⁽¹⁾	1,134 ⁽¹⁾
Etilenoglicol	$C_2H_4(OH)_2$	62,07 ⁽¹⁾	ND
Propilenoglicol	$C_3H_8O_2$	76,09 ⁽¹⁾	1,036 ⁽¹⁾
Clorofórmio	$CHCl_3$	119,38	1,48 ⁽¹⁾
Clorofórmio-deuterado	CCl_2D	120,38 ⁽¹⁾	1,500 ⁽¹⁾
Triton X [®] -100	$(C_2H_4O)_n C_{14}H_{22}O$	ND	1,070 ⁽¹⁾
Formaldeído	CH_2O	30,03 ⁽¹⁾	1,09 (Santa Cruz, 2015)
Ferrocianeto de potássio	$K_3Fe(CN)_6$	329,24 ⁽¹⁾	1,890 ⁽¹⁾
Cianeto de potássio	KCN	65,12 ⁽¹⁾	1,520 ⁽¹⁾
Cloreto de cálcio	$CaCl_2$	110,99 ⁽¹⁾	2,150 ⁽¹⁾
Di-hidrogenofosfato de potássio	KH_2PO_4	136,09 ⁽¹⁾	2,338 ⁽¹⁾
Ofloxacina	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	361,4 ⁽¹⁾	1,48 ⁽¹⁾
Sulfato de cobre pentahidratado	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	249,68 ⁽¹⁾	2,284 ⁽¹⁾

⁽¹⁾- Dados disponibilizados pelo fornecedor

Referencias citadas neste anexo:

Santa Cruz, Biotechnology. Formaldehyde. Disponível em: <http://www.scbt.com/datasheet-203049-formaldehyde.html> no dia 6 de Janeiro de 2014.

Anexo D. Representação esquemática do sistema experimental

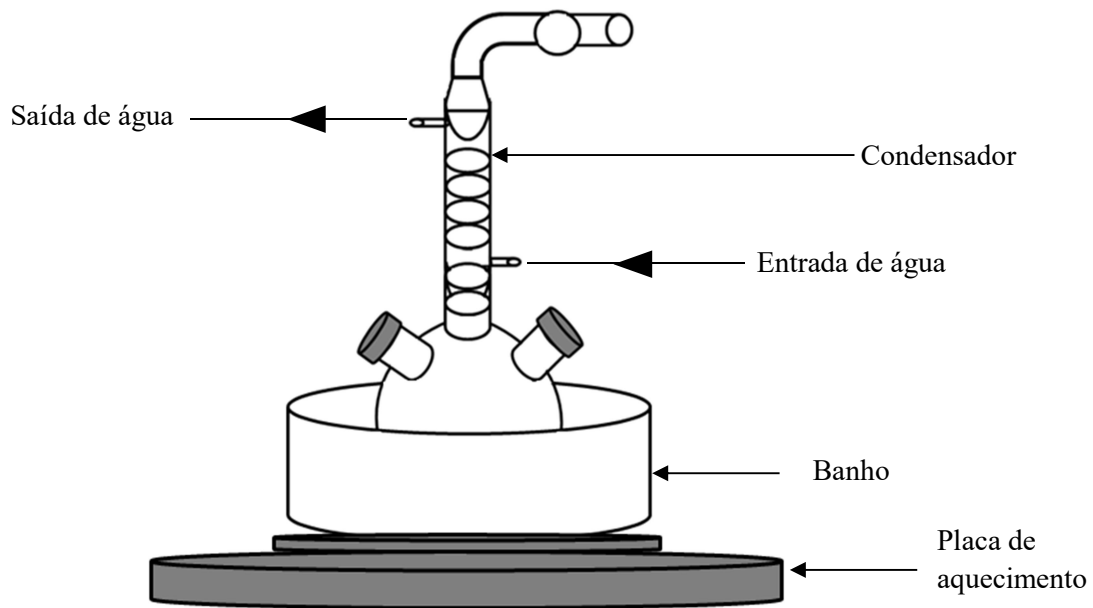


Figura D.1. Representação esquemática do sistema reacional utilizado para a síntese dos materiais.

Anexo E. Regiões de absorção da radiação de infravermelhos em polímeros

Para uma análise dos espectros obtidos por ATR-FTIR é essencial conhecer as bandas de absorção características.

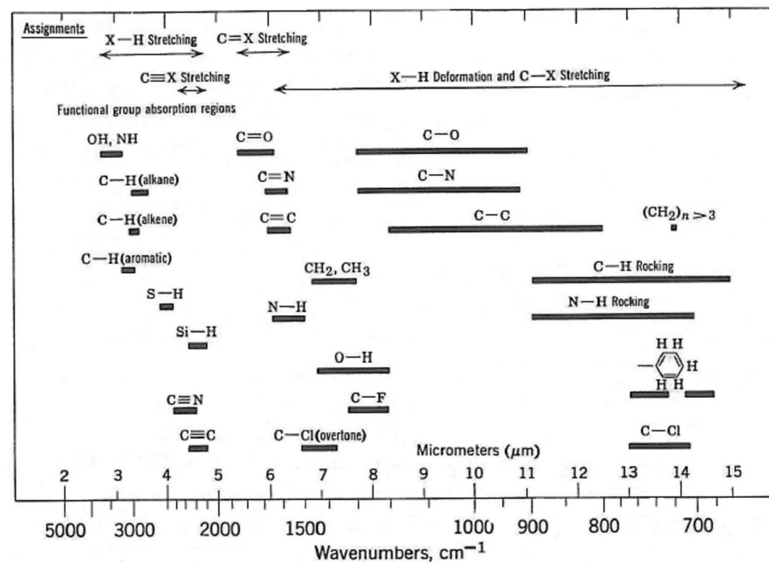


Figura E.1. Bandas de absorção de infravermelhos em polímeros, organizadas segundo o comprimento de onda e frequência (Billmeyer, 1984).

Anexo F. Determinação da curva de calibração para teste de hemocompatibilidade

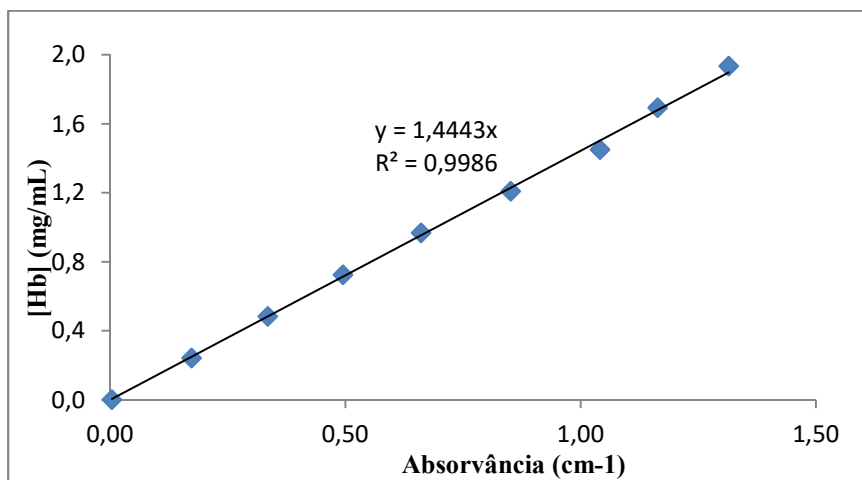


Figura F.1. Curva de calibração para determinação da concentração inicial de hemoglobina no sangue recebido.

Anexo G. Estudo de liberação controlada de fármaco

Na Tabela G.1. é possível analisar as diferentes concentrações de ofloxacina usadas para preparar as várias soluções padrão e a respectiva absorvância. A partir destes valores foi possível construir a curva de calibração da ofloxacina (Figura G.1.).

Tabela G.1. Concentrações de ofloxacina e respectivas absorvâncias das soluções padrão para construção da curva de calibração do fármaco

Ponto	Concentração (mg/mL)	Absorvância (cm ⁻¹)
0	0	0
1	0,001	0,0733
2	0,002	0,1466
3	0,003	0,2199
4	0,004	0,2932
5	0,005	0,3665
6	0,006	0,4398
7	0,007	0,5131
8	0,008	0,5864
9	0,01	0,7391
10	0,012	0,8918
11	0,014	1,0445
12	0,016	1,1972
13	0,018	1,3499
14	0,02	1,5026

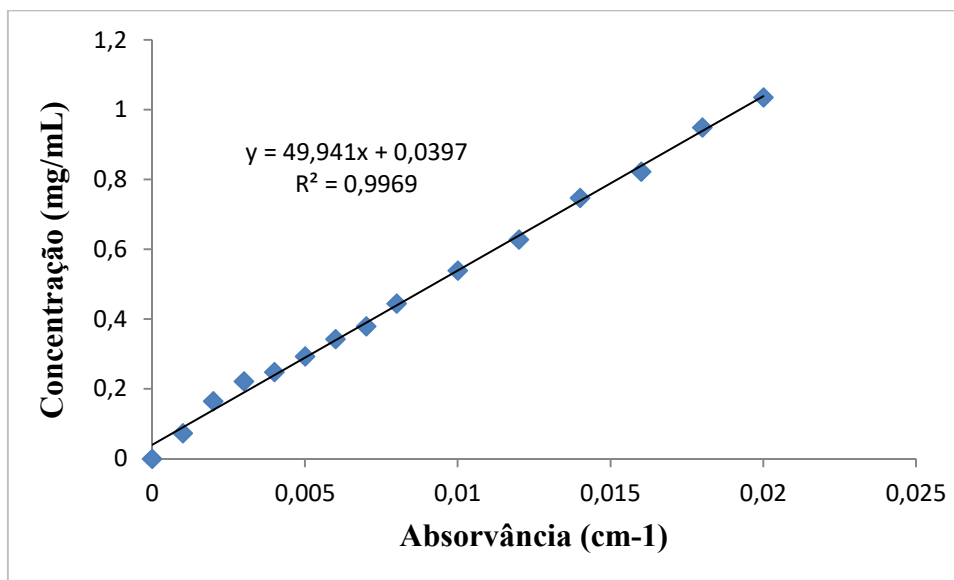


Figura G.1. Curva de calibração da ofloxacina.

Tabela G.2. Resultados do estudo de liberação de 1% de ofloxacina incorporada em adesivos PCL-LAR(1:1).

Amostra	Tempo (dias)	Absorvância Amostra	Absorvância Branco	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Fator de Diluição	Volume (mL)	Massa de ofloxacina libertada (μg)	Massa de ofloxacina acumulada (μg)	% Ofloxacina libertada
1	0,01042	0,4466	0,3372	4,6064	0,5	10	23,0321	23,0321	6,6275
2	0,02083	0,3547	0,1881	7,8420	1	10	78,4204	101,4525	29,1929
3	0,03125	0,2784	0,1358	6,7764	1	10	67,7640	169,2164	48,6919
4	0,0417	0,2168	0,1151	4,7864	1	10	47,8643	217,0807	62,4648
5	0,0625	0,3215	0,1889	6,1420	1	10	61,4201	278,5008	80,1384
6	0,083	0,1347	0,1174	0,5656	1	10	5,6556	284,1564	81,7658
7	0,1042	0,0968	0,0824	0,5097	1	10	5,0970	289,2533	83,2324
8	0,125	0,0628	0,0489	0,5699	1	10	5,6988	294,9521	84,8723
9	0,167	0,0749	0,0428	1,4943	1	10	14,9431	309,8953	89,1721
10	0,2083	0,0738	0,0372	0,2351	1	10	2,3505	312,2458	89,8485
11	0,25	0,0312	0,0289	0,0414	1	10	0,4140	312,6598	89,9676
12	0,292	0,0214	0,0127	0,4022	1	10	4,0220	316,6819	91,1250
13	0,3	0,0192	0,0096	0,4550	1	10	4,5503	321,2322	92,4343
14	1	0,0334	0,0159	0,8336	1	10	8,3355	329,5677	94,8329
15	2	0,0137	0,0087	0,2276	1	10	2,2759	331,8436	95,4878
16	3	0	0,0064	0	1	10	0	331,8436	95,4878
17	4	0	0,0034	0	1	10	0	331,8436	95,4878
18	7	0	0,0018	0	1	10	0	331,8436	95,4878

Tabela G.3. Resultados do estudo de liberação de 5% de ofloxacina incorporada em adesivos PCL-LAR(1:1).

Amostra	Tempo (dias)	Absorvância Amostra	Absorvância Branco	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Fator de Diluição	Volume (mL)	Massa de ofloxacina libertada (μg)	Massa de ofloxacina acumulada (μg)	% Ofloxacina libertada
1	0,01042	0,6269	0,3372	13,7620	0,5	10	68,8102	68,8102	4,2123
2	0,02083	0,7587	0,1881	28,1026	1	10	281,0258	349,8360	21,4154
3	0,03125	0,4228	0,1358	14,0488	1	10	140,4879	490,3239	30,0155
4	0,0417	0,254	0,1151	6,6959	1	10	66,9586	557,2825	34,1144
5	0,0625	0,4174	0,1889	11,0161	1	10	110,1609	667,4434	40,8579
6	0,083	0,2201	0,1174	4,8832	1	10	48,8318	716,2752	43,8472
7	0,1042	0,1113	0,0824	1,2708	1	10	12,7080	728,9832	44,6251
8	0,125	0,1105	0,0489	2,9740	1	10	29,7400	758,7233	46,4457
9	0,167	0,1079	0,0428	3,1616	1	10	31,6156	790,3389	48,3811
10	0,2083	0,0615	0,0372	1,1357	1	10	11,3569	801,6958	49,0763
11	0,25	0,0378	0,0289	0,3840	1	10	3,8398	805,5356	49,3113
12	0,292	0,0433	0,0127	1,5016	1	10	15,0161	820,5517	50,2306
13	0,3	0,0264	0,0096	0,8189	1	10	8,1891	828,7408	50,7319
14	1	0,0472	0,0159	1,5299	1	10	15,2987	844,0395	51,6684
15	2	0,0146	0,0087	0,2764	1	10	2,7644	846,8039	51,8376
16	3	0,0071	0,0064	0,0216	1	10	0,2156	847,0195	51,8508
17	4	0,0058	0,0034	0,1127	1	10	1,1274	848,1470	51,9198
18	7	0	0,0018	0	1	10	0	848,1470	51,9198

Anexo H. Teste de adesão em folhas de gelatina

Na Figura H.1. pode-se observar a separação das folhas de gelatina por descolagem, PCL-IEMA(1:2) e por rutura da folha de gelatina, OR-PCL-IEMA(75/25).

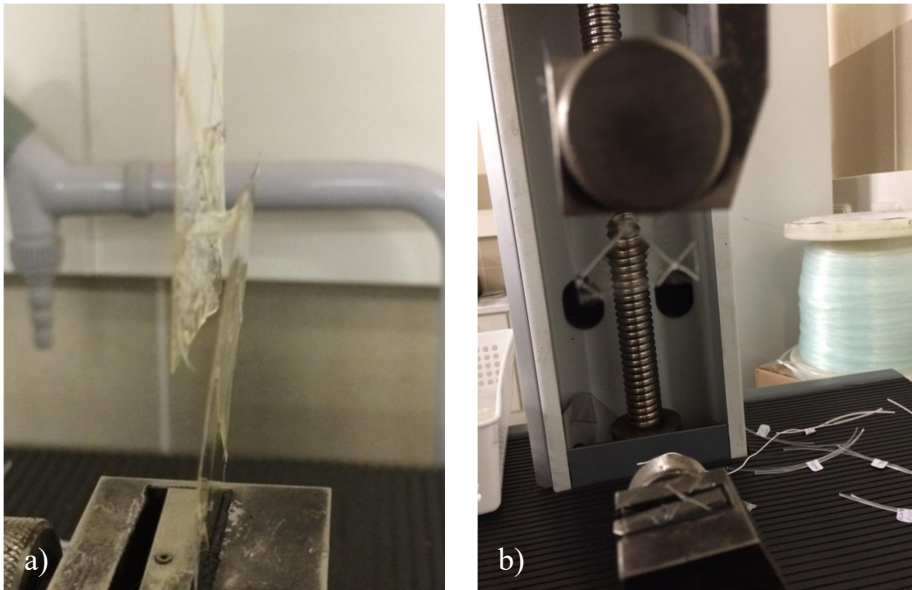


Figura H.1. Fotografias dos ensaios de tração do material: **a)** PCL-IEMA(1:2) e **b)** OR-PCL-IEMA(75/25).

Anexo I. Propriedades térmicas

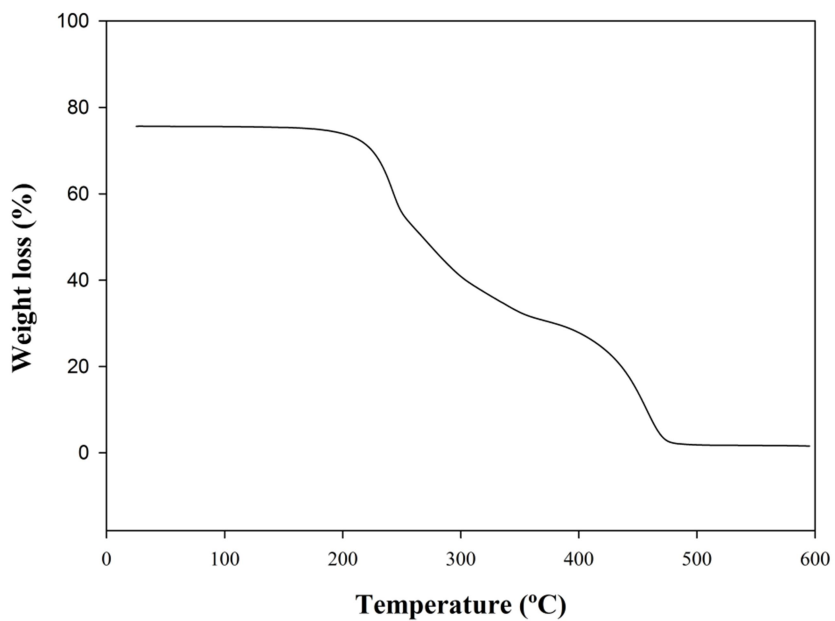


Figura I.1. Curva termogravimétrica do monómero Laromer, com um fluxo de aquecimento de 10°C/min.

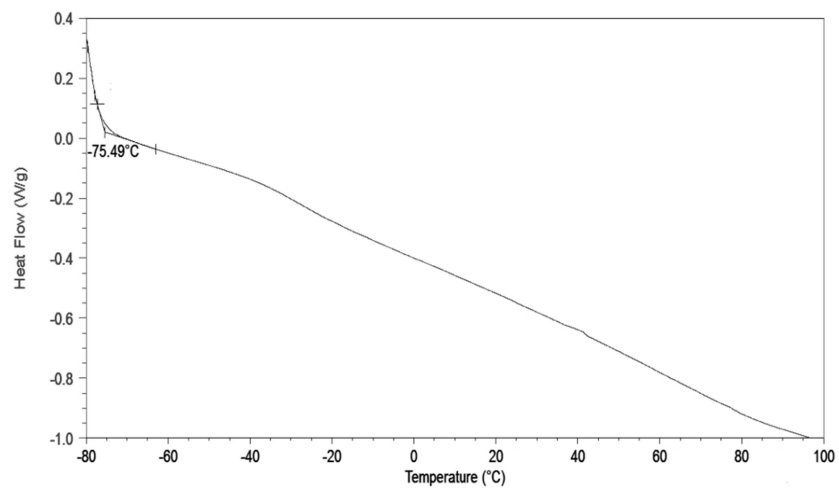


Figura I.2. Termograma obtido para o prepolímero PCL-LAR(1:1) e determinação da temperatura de transição vítrea.