

1 2 9 0



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Beatriz Gomes Jardim

**PREPARAÇÃO DE POLIÉSTERES
FOTORRETICULÁVEIS A PARTIR DE MATÉRIAS-
PRIMAS DE FONTES RENOVÁVEIS**

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia Química orientada pela Doutora Paula Ferreira, pelo Doutor Marcos Mariz e pela Doutora Patrícia Alves e apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

julho de 2021

Beatriz Gomes Jardim

Preparação de poliésteres fotorreticuláveis a partir de matérias-primas de fontes renováveis

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia Química orientada pela Doutora Paula Ferreira, pelo Doutor Marcos Mariz e pela Doutora Patrícia Alves e apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Supervisores:

Doutora Paula Cristina Nunes Ferreira
Doutor Marcos J. M. L. Machado Mariz
Doutora Patrícia de Jesus Pinto Alves

Coimbra 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Agradecimentos

Tantos foram aqueles que me acompanharam ao longo desta etapa, tornando-a mais fácil de superar. Nenhum agradecimento será suficiente para demonstrar a minha enorme gratidão para com todos eles.

Começando por agradecer à Doutora Paula Ferreira, pela oportunidade de trabalhar neste projeto, pela sua orientação e pela disponibilidade e compreensão que sempre demonstrou. Ao Doutor Marcos Mariz e à Doutora Patrícia Alves, pela disponibilidade e paciência, mesmo quando as questões eram muitas. O meu sincero agradecimento aos três.

Um agradecimento muito especial à Teresa Cernadas, que esteve lá desde o primeiro dia, me guiou pelos caminhos do laboratório e me fez acreditar que (tudo) era possível. Por toda a sua disponibilidade, e sabemos que foi muita, pela paciência e pela ausência de pancadinhas nas costas, o meu muito obrigada! Agradecer ainda ao João Pereira que foi o meu braço direito no laboratório nas primeiras semanas, que tantas dúvidas me tirou até ao último minuto e que fez do laboratório B22 um lugar bonito de trabalhar.

À Ana Isabel, a minha companheira de todas as horas, que me acompanha ao longo destes anos e me motiva a continuar. A pessoa que me acompanhou em todas as vitórias, mas, principalmente, me apoiou em todas as derrotas. Sem ela, nada disto seria possível. Ao Zé, por fazer sempre o ambiente o mais leve possível com as suas “ofensas” amigáveis e o seu sentido de humor apurado. Obrigada aos dois, a minha família feliz preferida.

Ao João Silva e à Vanessa Câmara, por todos os cafés digitais que tornaram a distância um bocadinho menos dolorosa. Por me fazerem companhia aos fins de semana, mesmo quando os olhos não aguentavam tanto computador. Pela força que me passaram e por estarem sempre lá. Confia. O meu muito obrigada.

Ao Paulo Jardim, ao Nelson Henriques e à Rosa Lopes, meus “melrinhos” do coração. Por todas as conversas de motivação, por todos os conselhos e por me ouvirem quando as dúvidas eram tantas. Obrigada. Por tudo.

Um enorme agradecimento à Samantha Dias, por todo o apoio incondicional, por toda a força e esperança que sempre me deu. Por ouvir as histórias malucas de Coimbra, mas também por ouvir os meus lamentos. Pela paciência com o mau humor dos dias maus e pela alegria que

demonstrou em cada conquista minha. O meu obrigada do fundo do coração. A distância não impediu que estivesse sempre lá para mim e isso nunca será esquecido.

Por último, mas o agradecimento mais especial. Ao meus pais. Os maiores responsáveis pela pessoa que sou hoje e por tudo o que alcancei. Por toda a confiança depositada em mim, por acreditarem que seria capaz e por me fazerem acreditar. Aliás, essa é a palavra que nos define. Acreditar. Por não terem desistido, e não me deixarem desistir, mesmo quando tudo parecia ser impossível. Por todo o apoio e compreensão. Por me terem ajudado a chegar aqui e realizar um sonho, mesmo que para isso tenhamos de estar longe. Por esta conquista, e por todas as outras, que são tanto minhas como vossas, o meu mais sincero obrigada.

A todos, o meu sincero agradecimento,

Beatriz Gomes Jardim

Resumo

É crescente o interesse conjunto da comunidade científica e da medicina na investigação de novos e melhores materiais biomédicos para o encerramento de feridas. Os adesivos cirúrgicos constituem uma opção extremamente apelativa visto colmatarem várias lacunas existentes na utilização de materiais tradicionais (como sejam suturas ou agrafos), como, por exemplo, a possibilidade de aplicação de forma não traumática, o que anula a necessidade de anestesia. Adicionalmente, dependendo do tipo de adesivo e do material de que é composto, poderá não ser necessária intervenção pós-cirúrgica para a sua remoção, devido à sua biodegradabilidade.

O presente trabalho consistiu na produção de adesivos cirúrgicos fotorreticuláveis, com base em poliésteres insaturados, sintetizados a partir de ácido itacónico e 1,4-butanodiol, e respetiva caracterização, permitindo aferir a influência da temperatura da reação de policondensação e do tempo de reticulação dos filmes, nas suas propriedades finais. Para tal, testaram-se vários tempos de reticulação, com adição de um fotoiniciador (Irgacure® 2959), obtendo-se matrizes homogéneas, uniformes e transparentes após 1, 3 e 5 minutos de exposição à irradiação UV. Considerada uma adequada relação entre o tempo de reticulação e as propriedades finais, passou-se à caracterização dos filmes.

Foram aplicadas as técnicas de ATR-FTIR e ¹H RMN de modo a aferir a composição dos poliésteres sintetizados bem como de cada um dos filmes reticulados. As caracterizações de teor de gel, capacidade de absorção de água e biodegradação revelaram que quanto maior o tempo de exposição dos filmes à luz UV, maior seria o seu grau de reticulação e, consequentemente, menor a sua capacidade de absorção de água e degradação hidrolítica.

Realizou-se, também, a análise térmica, revelando a elevada estabilidade térmica dos materiais, degradando a temperaturas em muito superiores à temperatura fisiológica. A reologia demonstrou que os materiais não reticulados apresentam uma viscosidade característica de um fluido Newtoniano e a determinação dos ângulos de contacto revelou o carácter hidrofílico da superfície dos filmes.

O estudo de biocompatibilidade não apresentou resultados satisfatórios, apresentando valores demasiado baixos de viabilidade celular, sendo necessário otimizar as condições de síntese e reticulação, de forma a verificar a reprodutibilidade destes resultados.

Abstract

The scientific and medical community is becoming increasingly interested in research into new and improved biomedical wound closure materials. Surgical adhesives are an extremely appealing option because they fill several gaps in the use of traditional materials (e.g. sutures or staples), such as the possibility of non-traumatic application, which negates the need for anesthesia. Moreover, depending on the type of adhesive and the material it is composed of, post-surgical intervention may not be required for removal, due to their biodegradability.

The present work consisted in the production of photocrosslinkable surgical adhesives, based on unsaturated polyesters, synthesized from itaconic acid and 1,4-butanediol, and respective characterization, allowing the influence of the polycondensation reaction temperature and the crosslinking time of the films on their final properties. For this purpose, several crosslinking times were tested, with the addition of a photoinitiator (Irgacure® 2959), obtaining homogeneous, uniform and transparent matrices after 1, 3 and 5 minutes of exposure to UV irradiation. Considering an adequate relation between the crosslinking time and the final properties, the films were characterized.

The ATR-FTIR and NMR techniques were applied in order to determine the composition of the synthesized polyesters as well as of each one of the crosslinked films. The characterizations of gel content, water absorption capacity and biodegradation revealed that the longer the crosslinking time of the films, the higher their degree of crosslinking and, consequently, the lower their water absorption capacity and hydrolytic degradation.

Thermal analysis was also performed, revealing the high thermal stability of the materials, degrading at temperatures far above the physiological temperature. The rheology demonstrated that the non-crosslinked materials have a viscosity characteristic of a Newtonian fluid and the determination of the contact angles revealed the hydrophilic character of the films surface.

The biocompatibility study did not show satisfactory results, presenting too low values of cell viability, being necessary to optimize the synthesis and crosslinking conditions, in order to verify the reproducibility of these results.

Índice

1.	Introdução.....	1
1.1.	Métodos de Encerramento de Incisões.....	1
1.1.1.	Adesivos Cirúrgicos.....	2
1.1.1.1.	Poliésteres.....	7
1.1.1.2.	Fotorreticulação.....	9
1.2.	Sustentabilidade Aplicada aos Biomateriais.....	10
2.	Materiais e Métodos.....	13
2.1.	Materiais.....	13
2.2.	Métodos de Síntese.....	14
2.2.1.	Síntese de Poliésteres Insaturados.....	14
2.2.2.	Determinação do Valor Ácido.....	14
2.2.3.	Reticulação Fotoquímica.....	15
2.3.	Métodos de Caracterização.....	16
2.3.1.	Espectroscopia de Infravermelho com Reflexão Total Atenuada.....	16
2.3.2.	Ressonância Magnética Nuclear.....	16
2.3.3.	Determinação do Teor de Gel.....	17
2.3.4.	Capacidade de Absorção de Água.....	17
2.3.5.	Degradação Hidrolítica em solução de PBS.....	18
2.3.6.	Análise Térmica.....	18
2.3.7.	Reologia.....	19
2.3.8.	Determinação de Ângulos de Contacto Dinâmicos.....	20
2.3.9.	Biocompatibilidade.....	20
2.3.9.1.	Estudo da Viabilidade Celular na Presença dos Adesivos.....	20
3.	Resultados e Discussão.....	23
3.1.	Síntese e Fotorreticulação dos Polímeros.....	23
3.2.	Análise por ATR-FTIR.....	24
3.3.	Análise de ¹ H RMN.....	27
3.4.	Determinação do Teor de Gel.....	29
3.5.	Avaliação da Capacidade de Absorção de Água.....	30
3.6.	Avaliação da Degradação Hidrolítica em PBS.....	33
3.7.	Análise Térmica SDT.....	35

3.8. Reologia	41
3.9. Determinação de Ângulos de Contacto	42
3.10. Biocompatibilidade	44
3.10.1. Estudo da Viabilidade Celular	44
4. Conclusão	47
4.1. Perspetivas Futuras	48
5. Referências Bibliográficas	49
Anexos	54
Anexo A. Montagem Reacional	54
Anexo B. Reação de Policondensação	54
Anexo C. Espetros de ¹ H RMN	55
Anexo D. Análise Térmica	57

Índice de Tabelas

Tabela 1. Adesivos cirúrgicos atualmente existentes no mercado e respectivas vantagens, desvantagens e aplicações.	6
Tabela 2. Materiais utilizados durante todo o projeto na síntese de poliésteres insaturados e na sua caracterização.	13
Tabela 3. Frequências e estruturas químicas dos grupos funcionais presentes nos UPs [39].	24
Tabela 4. Percentagem de teor de gel dos adesivos IB1 e IB2 para diferentes tempos de fotorreticulação.	29
Tabela 5. Temperaturas de degradação e correspondente percentagem de perda de massa de IB1 e IB2.	36
Tabela 6. Temperaturas de degradação e correspondente percentagem de perda de massa dos filmes com diferentes tempos de reticulação.	37

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura química dos poliésteres alifáticos: a) PLA, b) PGA e c) PCL.	7
Figura 2. Estrutura química do a) ácido maleico, b) ácido fumárico e c) ácido itacónico.	8
Figura 3. Estrutura química dos diois a) dietileno glicol, b) propileno glicol, c) etileno glicol e d) 1,4-butanodiol.	8
Figura 4. Estrutura química do Irgacure [®] 2959.	10
Figura 5. Estrutura química dos UPs IB1 e IB2.	23
Figura 6. Espectros ATR-FTIR dos UPs IB1 e IB2.	25
Figura 7. Espectros ATR-FTIR dos filmes IB1-1, IB1-3 e IB1-5, com 1, 3 e 5 minutos de reticulação, respetivamente.	26
Figura 8. Espectros ATR-FTIR dos filmes IB2-1, IB2-3 e IB2-5, com 1, 3 e 5 minutos de reticulação, respetivamente.	26
Figura 9. Espectro ¹ H RMN dos UPs IB1 (vermelho).	28
Figura 10. Valores da capacidade de absorção de água, em percentagem, para os adesivos desenvolvidos, após 24 horas de incubação em atmosfera saturada.	31
Figura 11. Capacidade de absorção de água dos filmes IB1-1, IB1-3 e IB1-5, com 1, 3 e 5 minutos de reticulação, respetivamente, por um período de 7 dias.	32
Figura 12. Capacidade de absorção de água dos filmes IB2-1, IB2-3 e IB2-5, com 1, 3 e 5 minutos de reticulação, respetivamente, por um período de 7 dias.	32
Figura 13. Perda de massa (%) dos adesivos IB1 e IB2 para os vários tempos de reticulação ao longo de 45 dias.	33
Figura 14. Perda de massa (%) dos adesivos IB1 e IB2 para os vários tempos de reticulação ao longo de 72 horas.	34
Figura 15. Perfil de degradação térmica de IB1 e IB2, obtido através de TGA e respetiva curva DTG.	35
Figura 16. Curvas DSC dos polímeros IB1 e IB2 obtidos através da análise SDT.	36
Figura 17. Curvas da derivada de TGA (DTG) dos vários filmes com diferentes tempos de reticulação.	37
Figura 18. Curvas DSC dos polímeros não reticulados.	39
Figura 19. Curvas DSC dos filmes IB1-1, IB1-3 e IB1-5.	40
Figura 20. Curvas de DSC dos filmes IB2-1, IB2-3 e IB2-5.	40
Figura 21. Resultados de reologia dos polímeros IB1 e IB2 para as temperaturas de 25 °C e 37 °C.	42

Figura 22. Ângulos de contacto para os filmes IB1-1; IB1-3 e IB1-5.....	43
Figura 23. Ângulos de contacto para os filmes IB2-1; IB2-3 e IB2-5.....	43
Figura 24. Avaliação da viabilidade celular após 1 e 3 dias de contacto com os diferentes adesivos. K ⁻ , controlo negativo e K ⁺ , controlo positivo.....	45
Figura A.25. Montagem reacional para a preparação de poliésteres insaturados.....	54
Figura B.26. Reação de policondensação entre o ácido itacónico e o 1,4-butanodiol.....	54
Figura C.27. Espectro de ¹ H RMN do 1,4-Butanodiol.....	55
Figura C.28. Espectro de ¹ H RMN do ácido itacónico.....	55
Figura C.29. Espectro de ¹ H RMN do IB1.....	56
Figura C.30. Espectro de ¹ H RMN do IB2.....	56
Figura D.31. Curva de TGA dos filmes IB1-1 e IB2-1.....	57
Figura D.32. Curva de TGA dos filmes IB1-3 e IB2-3.....	57
Figura D.33. Curva de TGA dos filmes IB1-5 e IB2-5.....	58
Figura D.34. Curvas DSC dos filmes IB1-1 e IB2-1, obtidas através da análise SDT.....	58
Figura D.35. Curvas DSC dos filmes IB1-3 e IB2-3, obtidas através da análise SDT.....	59
Figura D.36. Curvas DSC dos filmes IB1-5 e IB2-5, obtidas através da análise SDT.....	59

Nomenclatura, Símbolos e Acrónimos

ATR-FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier com reflexão total atenuada
AF	Ácido Fumárico
AI	Ácido Itacónico
AM	Ácido Maleico
VA	Valor Ácido
BOD	1,4-Butanodiol
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTG	Primeira Derivada da Curva TGA
EtOH	Etanol
IEMA	2-Isocianoetil Metacrilato
KOH	Hidróxido de Potássio
m	Massa (g)
OH	Grupo Hidroxilo
PBS	Poli(sucinato de butileno)
PBSA	Poli(adipato de succinato de butileno)
PCL	Poli(ϵ -caprolactona)
PEF	Poli(etileno-2,5-furandicarboxilato)
PGA	Poli(ácido glicólico)
PLA	Poli(ácido láctico)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SDT	Analisador Térmico Simultâneo
T_d	Temperatura de Degradação
T_g	Temperatura de Transição Vítreá

TGA	Análise Termogravimétrica
UPs	Poliésteres Insaturados
UV	Ultravioleta
V	Volume (mL)
W_f	Peso Seco Final
W_h	Peso Húmido
W_i	Peso Seco Inicial
W_s	Peso Seco
δ	Desvio Químico (ppm)

1. Introdução

1.1. Métodos de Encerramento de Incisões

O encerramento de feridas consiste na manipulação das extremidades da incisão, de modo a efetuar a remodelação e reconstrução dos tecidos danificados. O método escolhido para o encerramento de uma determinada ferida é da mais elevada importância para o sucesso de uma intervenção cirúrgica [1, 2].

Um cirurgião, para que escolha o método de encerramento de feridas mais acertado, deve ter em conta certos aspetos essenciais, nomeadamente, a localização da ferida, as características do tecido a tratar e o tipo de paciente, tendo sempre em vista a cura mais célere, sem complicações, menos dolorosa e uma cicatriz funcional e estética, caso a intervenção seja realizada à superfície da pele [2, 3].

Ao longo dos anos, o encerramento de feridas e os equipamentos a ele associados têm sido alvo de intensa investigação, possibilitando que técnicas antigas, cujos resultados não eram satisfatórios, vão sendo abandonadas e substituídas por métodos recentes, mais simples, mais eficazes e mais seguros.

De entre as diversas técnicas hoje utilizadas para o encerramento de feridas, as mais comuns são as suturas, os agrafos e os adesivos cirúrgicos.

As suturas são o método mais utilizado neste meio devido às suas propriedades mecânicas e, ainda, por ser possível aplicá-las em praticamente todo o tipo de feridas. O material que as compõem deve ser inerte, não gerar qualquer tipo de reação adversa no corpo humano, ser fino e de superfície lisa, forte e fácil de manusear [2, 4]. Por isso, ao longo do tempo, tem-se intensificado o desenvolvimento de materiais que apresentem tais características e, atualmente, já se encontram no mercado, em quantidade significativa [2, 5]. São exemplos: o Vicryl® [6], sutura sintética absorvível, ou a Seda® [7], sutura natural não-absorvível.

No entanto, apesar das evoluções observadas nos materiais utilizados, as suturas são sempre um método invasivo e doloroso para o paciente, havendo sempre a necessidade de conferir mais um trauma ao tecido a tratar [8].

Por sua vez, os agrafos, embora não tanto, são também um método amplamente utilizado, pelo facto de poderem ser aplicados rapidamente e não requererem um elevado nível de prática por parte do profissional de saúde, tornando-se numa boa solução para situações urgentes.

São comumente utilizados agrafos metálicos, de titânio ou aço inoxidável, não-absorvíveis, o que leva à necessidade de uma intervenção pós-operatória para a sua remoção [2]. No entanto, foram, recentemente, colocados no mercado agrafos absorvíveis com base em polímeros biodegradáveis, como é o exemplo do INSORB[®] [2, 4].

No que toca à sua aplicação, está, tal como nas suturas, inerente um processo invasivo e traumático para os tecidos nos quais são aplicados, sendo esta uma das suas principais desvantagens.

Por último, os adesivos cirúrgicos são um método de encerramento de feridas que desperta cada vez mais interesse e, conseqüentemente, é cada vez mais estudado pela comunidade científica em conjunto com a medicina. Por enquanto, aparentam ser uma boa solução para os diversos problemas encontrados nas suturas e nos agrafos. As suas principais vantagens consistem: na possibilidade de aplicação de forma não traumática, o que anula a necessidade de anestesia e, eventualmente, dependendo do tipo de adesivo e do material de que é composto, não ser necessária intervenção pós-cirúrgica para a sua remoção. Estas vantagens fazem do adesivo um dispositivo cirúrgico bastante promissor [9].

1.1.1. Adesivos Cirúrgicos

Um adesivo cirúrgico, enquanto dispositivo médico, deve, acima de tudo, exercer a função para a qual está destinado, no tratamento e regeneração de tecidos biológicos, com o menor impacto possível sobre o organismo do paciente.

Tratando-se de um adesivo para aplicação cirúrgica, para além das características já expectáveis, como eficiência e eficácia, deverá ser, também, biocompatível e biodegradável [10]. Ou seja, o adesivo, para além de contribuir para regeneração dos tecidos de forma rápida, deve manter juntos tecidos lacerados enquanto saram (pelo menos até que apresentem resistência mecânica suficiente para iniciar o processo de cicatrização). Para além disso, quando em contacto com o organismo, o adesivo tem de ser compatível com os tecidos, sem que estes manifestem qualquer alteração, reação ou rejeição, e a sua degradação deve dar origem a produtos que o organismo absorva ou elimine naturalmente [9, 11].

O desenvolvimento constante deste tipo de dispositivos promove uma melhoria considerável das práticas cirúrgicas, o que, conseqüentemente, influencia positivamente a qualidade de vida do paciente. São mesmo considerados revolucionários na área médica cirúrgica, já que oferecem inúmeras vantagens relativamente aos métodos tradicionais, nomeadamente, facilidade de aplicação e manuseamento, possibilidade de agir como sistema

controlado de libertação de fármacos, menores danos nos tecidos circundantes, conforto para o paciente e, como já se referiu, biodegradabilidade. Esta última, desde logo, apresenta a grande vantagem de reduzir as intervenções, já que deixa de ser necessário a remoção pós-cirúrgica [10, 11, 12].

Hoje em dia estão a ser estudados diversos bioadesivos, tendo alguns chegado já ao mercado. Os biomiméticos de extrato de mexilhão marinho [13], os naturais ou biológicos, à base de colagénio [14] e fibrina [15], e os sintéticos e semi-sintéticos produzidos, por exemplo, a partir de cianoacrilatos [9] e gelatina-resorcinol-formaldeído, [12].

Os adesivos biomiméticos são, como o próprio nome indica, inspirados em fenómenos naturais ou biológicos que acontecem na natureza. Foram desenvolvidos com o objetivo de colmatar algumas lacunas apresentadas por adesivos naturais e sintéticos, no que diz respeito à sua adesão em meios húmidos.

Um dos adesivos biomiméticos mais estudado é inspirado nos mexilhões marinhos. Estes segregam uma proteína em forma de fios, que na sua extremidade possuem uma placa adesiva, resistente à água, mantendo-o ancorado à superfície subaquática. Apresentam grande flexibilidade, biodegradabilidade e a sua adesão a outras superfícies, como tecidos vivos, já foi verificada [8, 13]. No entanto, apresentam tempo de aplicação elevado e a cinética da reticulação é muito sensível à humidade. Para além disso, a sua produção em grande escala não é rentável, pois, são precisos cerca de 10 000 mexilhões para a extração de 1g de proteína adesiva, daí ainda nenhum adesivo com base em extratos de mexilhão marinho ser comercializado [8].

Atualmente, vários polímeros naturais foram já alvo de estudo para o desenvolvimento de adesivos cirúrgicos. Entre eles estão o polissacarídeo quitosano e as proteínas: fibrina, colagénio e gelatina.

As propriedades hemostáticas, que ajudam no processo de coagulação, são uma das grandes vantagens na utilização de proteínas na produção de adesivos cirúrgicos. Porém, as mesmas proteínas, também apresentam algumas desvantagens, tais como, a sensibilidade microbiana, a sensibilidade à água, algumas falhas de desempenho que podem estar relacionadas com a estrutura compacta da maioria das proteínas e ainda um preço algo elevado.

Para um adesivo resistir às forças exercidas pelas extremidades da ferida terá de ser composto por cadeias longas, flexíveis e reticuladas, o que acontece com poucas proteínas. A fibrina e a gelatina, são as proteínas mais utilizadas nesta área, justamente por serem das poucas a apresentar tais características [9].

Introdução

Os adesivos cirúrgicos compostos por fibrina, proteína derivada de agentes coagulantes do sangue, embora apresentem a vantagem de um bom controlo de hemorragias e não promovam respostas adversas por parte dos tecidos, não possuem dureza nem rigidez apropriadas para aplicações onde a resistência mecânica é crucial. Além de que, poderão ainda ser responsáveis pela transmissão de doenças através do sangue [8, 9, 15].

O colagénio é outra proteína utilizada na produção de adesivos cirúrgicos, conferindo-lhes, também, propriedades coagulantes. No entanto, o tempo necessário para o adesivo aderir devidamente aos tecidos é elevado, fazendo com que não seja ideal para aplicações clínicas urgentes [8, 16].

O quitosano é frequentemente utilizado em adesivos com propriedades selantes. No entanto, a sua utilização como adesivo cirúrgico para regeneração de tecidos, ainda não foi extensivamente estudada, porém, nos poucos estudos que existem, vem sendo demonstrada a sua eficácia. Contudo, o material de quitosano apresenta algum dano térmico nos tecidos onde é aplicado [8].

Tendo em conta todas as limitações observadas nos adesivos naturais e biomiméticos, e de forma a colmatá-las, estes são frequentemente substituídos por adesivos sintéticos ou semissintéticos, pois na sua produção é possível controlar algumas características estruturais de acordo com a aplicação pretendida.

A gelatina, derivada do colagénio, apesar de ser uma proteína natural, necessita da adição de um agente reticulante para ser utilizada na produção de adesivos cirúrgicos, de modo a aumentar a sua força de aderência e controlar a sua degradação. A gelatina é frequentemente misturada com resorcinol reticulado com formaldeído, o que resulta num adesivo semissintético com alta resistência, porém, a citotoxicidade associada ao formaldeído é um fator limitante [9, 12].

Alguns dos adesivos cirúrgicos sintéticos mais utilizados têm por base os cianoacrilatos e poliuretanos, no entanto, o estudo de adesivos baseados em poliésteres está cada vez mais intensificado.

Os adesivos à base de cianoacrilato apresentam uma excelente capacidade de adesão, resistência e durabilidade, mas quando em contacto com superfícies húmidas, libertam calor, o que pode prejudicar os tecidos com os quais se encontram em contacto [9]. Para além desta desvantagem, ainda está associado a uma elevada toxicidade devido aos produtos que resultam da sua degradação, o cianoacetato e o formaldeído. Devido às desvantagens mencionadas, hoje em dia estes adesivos são apenas utilizados em aplicações externas e de curta duração [9].

A versatilidade e possibilidade de controlar as propriedades dos poliuretanos são fatores extremamente interessantes para aplicações biomédicas, muito particularmente, em adesivos cirúrgicos. Além disso, a biodegradação e a biocompatibilidade observadas, são duas características que os tornam ainda mais promissores na área biomédica [8].

Alguns estudos, realizados nos últimos anos, demonstram que os produtos resultantes da degradação de adesivos à base de poliuretanos, não apresentam toxicidade e o próprio adesivo apresenta excelentes propriedades hemostáticas. Contudo, o tempo de aplicação é demasiado elevado, por isso foram realizados estudos onde a produção de adesivos foi levada a cabo por fotorreticulação. Estes testes demonstraram grandes vantagens no controlo do tempo, local e evolução da reticulação, conseguindo resultados adequados para a sua aplicação enquanto adesivos cirúrgicos [8, 9].

Os tipos de adesivos mencionados neste capítulo, as suas vantagens e desvantagens, aplicações e produtos já comercializados, encontram-se resumidos na Tabela 1.

No capítulo seguinte serão explorados, de forma mais extensiva, os adesivos cirúrgicos à base de poliésteres.

Introdução

Tabela 1. Adesivos cirúrgicos atualmente existentes no mercado e respetivas vantagens, desvantagens e aplicações.

Tipo de Polímero	Material	Vantagens	Desvantagens	Aplicações	Comercial	Referências
Natural	Fibrina	Propriedades hemostáticas; Não provocam respostas adversas por parte dos tecidos.	Dureza e rigidez inadequadas para certas aplicações; Responsáveis por transmissão de doenças através do sangue.	Controlo de hemorragias; Encerramento de feridas; Redução de equimoses e da formação de hematomas; Selagem e reparação de fugas de ar ou fluidos.	- Hemaseel APR TM - TISSEEL Lyo - Evice [®] - TachoSil [®] - Evarrest [®] - Vitagel [®]	[9, 12, 8]
	Colagénio	Propriedades hemostáticas.	Tempo de aplicação elevado.	Controlo de hemorragias; Controlo de fugas; Ativação de fatores de coagulação.	- CoStasis [®] - TachoSil [®] - FloSeal [®] - Proceed [®] - Vitagel TM - Avitene TM	[8 - 17]
	Quitossano	Propriedades hemostáticas e selantes.	Algum dano térmico nos tecidos.	Controlo de hemorragias; Anastomose nervosa.	- Chitoflex [®] - Celox TM - QuikClot [®]	[8, 17]
Semi-Sintético	Gelatina-resorcinol-formaldeído	Alta resistência.	Toxicidade.	Controlo de hemorragias; Selagem e reparação de fugas em cirurgias pulmonares e vasculares.	- GRF glue [®] - BioGlue [®] - Gelfoam [®] - SurgiFoam [®] - Surgiflo [®]	[9, 8, 17]
Sintético	Cianoacrilato	Alta capacidade de adesão, resistência e durabilidade.	Toxicidade; Carcinogenicidade; Dano térmico nos tecidos.	Encerramento de feridas superficiais.	- Dermabond [®] - LiquidBand [®] - Soothe-N-Seal TM	[9, 8]
	Poliuretano	Biodegradação e biocompatibilidade; Propriedades hemostáticas.	Tempo de aplicação elevado;	Fixação óssea; Controlo de fugas e hemorragias.	- TissuGlu [®]	[9, 8]

1.1.1.1. Poliésteres

Atualmente, e devido à sua utilização num vasto leque de aplicações, os poliésteres são considerados uma das classes de polímeros mais importantes e versáteis. São polímeros que contêm grupos ésteres nas suas cadeias poliméricas principais e são sintetizados, geralmente, a partir da reação de policondensação entre um ácido dicarboxílico e um diol. Desta reação, para além do poliéster, resultam também subprodutos de baixo peso molecular, como a água, que, para que a reação ocorra apenas no sentido direto, deve ser extraída. Para tal, é comum utilizar-se um fluxo constante de azoto, que também mantém a atmosfera inerte, ou, então, vácuo.

Estes polímeros contêm ligações éster, como referido acima, que podem ser quebradas através de reações de hidrólise, o que lhes confere propriedades biodegradáveis, bioabsorvíveis e, em alguns casos, biocompatíveis, tornando-os interessantes para aplicações biomédicas [18,19].

Os poliésteres podem ser divididos em diversas categorias, aromáticos ou alifáticos, consoante a presença ou não de anéis na sua cadeia polimérica, e insaturados ou saturados, tendo em conta a existência, ou não, de ligações duplas entre carbonos na sua molécula [20, 21].

Os poliésteres alifáticos saturados, como o poli(ácido láctico) (PLA), o poli(ácido glicólico) (PGA) e a poli(ϵ -caprolactona) (PCL) (Figura 1), são os mais utilizados na área biomédica, muito por conta da sua disponibilidade comercial, da sua capacidade de biodegradação e da sua biocompatibilidade [19].

São utilizados, por exemplo, na produção de *scaffolds* para engenharia de tecidos, suturas ou ainda como sistemas controlados de libertação de fármacos. No entanto, apresentam limitações devido à sua estrutura simples, como a hidrofobicidade ou uma degradação hidrolítica lenta [18, 19, 22].

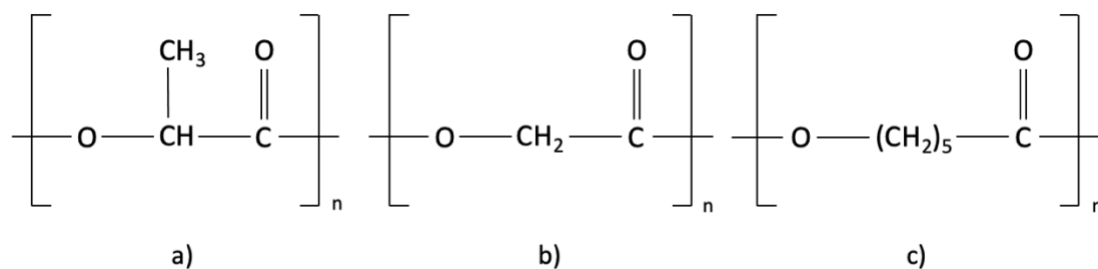


Figura 1. Estrutura química dos poliésteres alifáticos: a) PLA, b) PGA e c) PCL.

Introdução

Apesar da grande utilização de poliésteres saturados, como referido acima, nos últimos anos tem havido um crescente interesse em poliésteres insaturados (UPs). Isto deve-se a vários fatores, como o custo reduzido de produção, facilidade em manipular e sintetizar, e ainda a sua aplicabilidade num vasto leque de setores [20]

As suas propriedades, tanto físico-químicas como mecânicas, podem ser controladas pela combinação e proporção estequiométrica dos monómeros utilizados na sua síntese e pelas condições de reação, dependendo da aplicação para a qual se destina, como a indústria automóvel, da construção, elétrica e na área biomédica [20, 23].

A nível comercial, os monómeros mais utilizados para conferir insaturações nas cadeias dos poliésteres são os de ácido maleico (AM) e os de ácido fumárico (AF) de origem petrolífera. Contudo, a crescente preocupação ambiental favorece a utilização de produtos naturais, destacando-se neste grupo o AF, de origem natural, e o ácido itacónico (AI).

As estruturas químicas dos ácidos referidos anteriormente estão apresentadas na Figura 2.

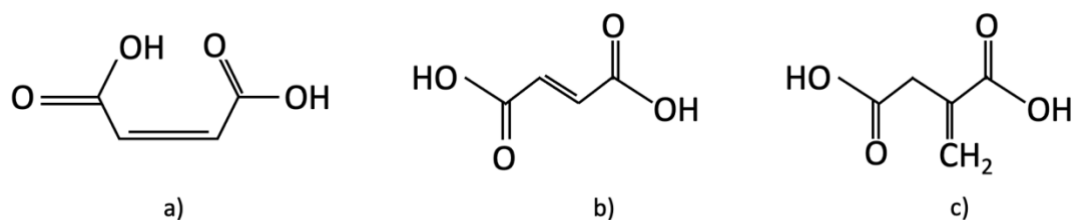


Figura 2. Estrutura química do a) ácido maleico, b) ácido fumárico e c) ácido itacónico.

Na síntese de poliésteres insaturados, para além do ácido dicarboxílico, é necessário a adição de um diol. Estes permitem a ocorrência da reação de policondensação devido à presença de grupos hidroxilo (OH) na sua estrutura. Os diois mais utilizados na síntese de UPs são o dietileno glicol, propileno glicol e o etileno glicol. Porém, têm sido estudadas outras fontes de OH e, devido à possibilidade de ser completamente extraído e sintetizado de forma natural, o 1,4-butanodiol (BOD) tem atraído muita atenção [24].

As estruturas químicas dos diois, anteriormente referidos, estão presentes na Figura 3.

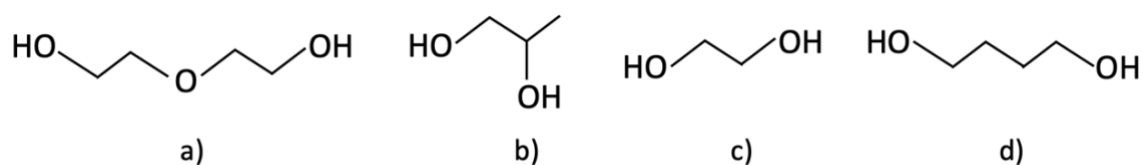


Figura 3. Estrutura química dos diois a) dietileno glicol, b) propileno glicol, c) etileno glicol e d) 1,4-butanodiol.

Quando se trata da produção de adesivos cirúrgicos, o processo de reticulação é um passo necessário e de extrema importância. No entanto, para que este seja possível, é necessária a presença de ligações duplas na cadeia do poliéster.

Como é possível verificar pela Figura 1, os poliésteres saturados não possuem ligações duplas carbono-carbono, sendo preciso recorrer à adição de um composto, como, por exemplo, o 2-isocianoetil metacrilato (IEMA), que lhes confere essas mesmas ligações, permitindo assim a criação de matrizes poliméricas tridimensionais estáveis e insolúveis [11].

Alguns estudos recentes, utilizando o PLA e a PCL para a produção de adesivos cirúrgicos, revelaram que estes materiais apresentam uma viscosidade adequada para a aplicação em questão, e que o adesivo de PLA apresenta melhores resultados a nível de biocompatibilidade em relação ao de PCL, sendo, por isso, considerado um potencial candidato para estudos futuros [11, 12]. No entanto, a PCL foi também estudada em conjunto com óleo rícino, um ácido dicarboxílico alifático natural, o que levou ao melhoramento de propriedades, tais como, menor capacidade de absorção de água e maior taxa de degradação após 6 semanas [12].

Os poliésteres insaturados, por sua vez, não necessitam de funcionalização pois, na sua cadeia polimérica, já se encontram ligações C=C, podendo serem reticulados apenas com a adição de um agente reticulante.

1.1.1.2. Fotorreticulação

A fotorreticulação é extensivamente utilizada em várias áreas da biomedicina, como a engenharia de tecidos, biossensores, restaurações dentárias *in situ* e sistemas de administração de medicamentos.

Esta técnica consiste em fazer incidir radiação, geralmente UV, na mistura polímero/fotoiniciador, que será absorvida por este último, levando à formação de radicais livres, essenciais à fotorreticulação, uma vez que são estes que dão início ao mecanismo de reticulação dos materiais [25, 26].

Os polímeros utilizados, o tipo e quantidade de fotoiniciador, o comprimento de onda do feixe e o tempo de radiação são os parâmetros responsáveis pela eficiência da fotorreticulação, podendo ser manipulados de forma a controlar algumas características do produto final, como a resistência mecânica ou hidrofobicidade [12, 26].

O fotoiniciador, em particular, tem um papel de extrema importância na fotoreticulação. Para além de ser o precursor da reação, tal como referido anteriormente, é também responsável por outros parâmetros, como a velocidade de reação, a sensibilidade e resistência à luz e a densidade de reticulação. Esta última, por sua vez, controla algumas propriedades do produto final, como a permeabilidade, degradação e capacidade de absorção de água [26]. Por estes motivos é necessário ter especial atenção aquando da escolha do fotoiniciador.

Visto que o enfoque deste projeto são os adesivos cirúrgicos para aplicações biomédicas, uma das propriedades do fotoiniciador a ter em maior consideração é a sua biocompatibilidade. William *et al* estudou a reação de determinadas células a diferentes tipos e concentrações de fotoiniciadores. Concluiu que o fotoiniciador que apresentou melhores resultados, com excelentes resultados de biocompatibilidade, devido à sua baixa toxicidade, foi o (2-hidroxi-1-[4-(2-hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona (Irgacure[®] 2959), cuja estrutura química está representada na Figura 4 [26, 27].

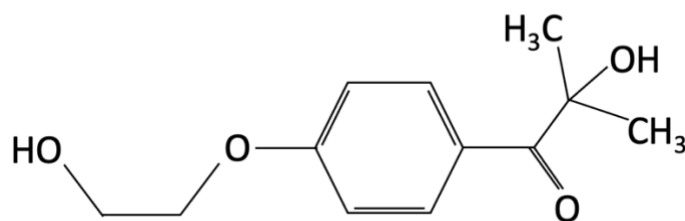


Figura 4. Estrutura química do Irgacure[®] 2959.

A fotoreticulação apresenta diversas vantagens em relação a outros métodos de reticulação, como, por exemplo, a térmica. Entre elas estão a velocidade de reticulação, mesmo à temperatura ambiente, que reduz significativamente o tempo cirúrgico, o facto de não haver necessidade de utilizar solventes e, ainda, a possibilidade de ser produzido *in situ*, sem danificar os tecidos nos quais são aplicados. Estas vantagens têm também um grande impacto económico, baixando consideravelmente o custo do processo [12, 25, 26, 28].

1.2. Sustentabilidade Aplicada aos Biomateriais

Atualmente existem várias razões que incentivam a produção de materiais com base em recursos renováveis, ao invés de petrolíferos. Desde o impacto ambiental que estes causam, tanto pelo esgotamento de recursos não renováveis como pela dificuldade em eliminar os

resíduos provenientes da sua produção, até questões económicas, devido às imprevisíveis e constantes flutuações do preço do petróleo [23, 24, 29, 30].

Existe ainda uma crescente preocupação, por parte de entidades governamentais, no que diz respeito às questões ambientais, o que leva à implementação de regulamentos e leis a que as indústrias têm de se adaptar [23].

A indústria dos polímeros não é exceção, e como tal, tem-se verificado uma grande expansão na síntese de polímeros com base em reagentes provenientes de fontes renováveis. Esta expansão é apoiada pelo facto de ser possível obter monómeros e polímeros que são fiéis substitutos dos produzidos pela indústria petrolífera, o que permite não comprometer a qualidade dos produtos e ao mesmo tempo prevenir a extinção de recursos [24, 30].

Devido às suas propriedades a nível de biodegradabilidade e, em certos casos, biocompatibilidade, os poliésteres são um dos grandes conjuntos de materiais que mais tem captado atenções na indústria à base de fontes renováveis. Existem já diversos materiais, disponíveis em grandes quantidades e prontos a utilizar para a produção de poliésteres, como os açúcares, óleos vegetais, glicerol ou suberina, entre outros [24].

Apesar das vantagens que esta “indústria sustentável” apresenta, o fator económico continua a ser um entrave, visto que os produtos de base petrolífera continuam a ter preços mais apelativos. No entanto, o conceito de “biorrefinaria” vem tornar possível a produção industrial de produtos à base de fontes renováveis, permitindo, assim, que estes apresentem preços competitivos em relação aos produtos petrolíferos [24].

Existem já alguns produtos a serem comercializados, corroborando a possibilidade de sucesso por parte destes materiais, como o PLA (IngeoTM), poli(sucinato de butileno) (PBS) e poli(adipato de succinato de butileno) (PBSA) (Bionelle[®]), e ainda poli(etileno-2,5-furandicarboxilato) (PEF) (Avantium). Outros produtos como o ácido succínico (AS), o AF ou o AI podem ser igualmente produzidos por via biológica, recorrendo à fermentação direta de açúcares provenientes da biomassa [23, 24, 31, 32].

O AS, também conhecido como ácido butanodióico, responsável pela produção de tetrahydrofurano, ácido adípico ou 1,4-butanodiol, é produzido por via da fermentação. Este processo traz algumas vantagens para o ambiente, visto que utiliza CO₂ para converter o substrato no produto pretendido. Algumas empresas estão já a produzir AS por esta via, como a *BASF and Purac*, a *Bioamber*, a *Reverdia* e a *Myriant*.

Outra questão que se prende com a sustentabilidade, e que pode ser contornada na produção de adesivos cirúrgicos, é a utilização desnecessária de recursos. A possibilidade de sintetizar UPs sem adição de solventes nem catalisadores, utilizando apenas um diol, um ácido

Introdução

dicarboxílico e, para o processo de fotorreticulação, um fotoiniciador, é de grande interesse tanto a nível ecológico como económico, tornando-se num fator essencial à produção competitiva de biomateriais com base em fontes renováveis.

No desenvolvimento desta dissertação teve-se sempre em vista a sustentabilidade, na medida em que a síntese do poliéster insaturado foi baseada em monómeros provenientes de fontes renováveis, não utilizando qualquer tipo de solvente nem catalisador. Tendo sempre como objetivo, com o estudo da influência da temperatura de reação, a diminuição do tempo de reação, evitando um gasto desnecessário de energia.

2. Materiais e Métodos

Neste capítulo serão descritos os procedimentos experimentais e técnicas de caracterização utilizadas ao longo deste projeto, de forma a facilitar a apresentação dos resultados no capítulo seguinte.

2.1. Materiais

Na Tabela 2 estão elencados os materiais utilizados tanto na síntese de poliésteres insaturados como na caracterização dos mesmos.

Tabela 2. Materiais utilizados durante todo o projeto na síntese de poliésteres insaturados e na sua caracterização.

Função	Nome	Fórmula Química	Mn (g/mol)	Pureza (%)	Fornecedor	
Síntese de Poliésteres Insaturados	Reagente	Ácido Itacônico	C ₅ H ₆ O ₄	130,10	99	ACROS <i>Organics</i>
	Reagente	Butanodiol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90,12	99	ACROS <i>Organics</i>
	Inibidor	Hidroquinona	C ₆ H ₆ O ₂	110,11	100	ACROS <i>Organics</i>
Determinação do Valor Ácido	Base	Hidróxido de Potássio	KOH	56,10	85	<i>Merck</i>
	Solvente	Etanol	C ₂ H ₆ O	46,07	96	-
	Indicador	Fenolftaleína	C ₂₀ H ₁₄ O ₄	318,32	99	ACROS <i>Organics</i>
Reticulação Fotoquímica	Fotoiniciador	Irgacure [®] 2959	-	224,30	-	BASF
Caracterização	Solvente Teor de Gel	Éter Dietílico	C ₄ H ₁₀ O	74,12	99	ACROS <i>Organics</i>
	Solvente Biodegradação	PBS	-	-	-	Sigma- Aldrich
	Solvente RMN	Clorofórmio-D ₈	CDCl ₃	120,38	99,8	<i>Euriso-top</i>

2.2. Métodos de Síntese

2.2.1. Síntese de Poliésteres Insaturados

Esta fase do projeto incidiu sobre a síntese de poliésteres insaturados com base na policondensação entre o ácido itacónico e o 1,4-butanodiol, tendo como objetivo final a produção de adesivos cirúrgicos.

Para esta reação utilizou-se um reator de base redonda de 4 tubuladuras com capacidade máxima de 100 mL. Numa das tubuladuras foi instalado um condensador, de forma a garantir a remoção da água formada na reação, noutra foi introduzido um fluxo constante de azoto, de modo a obter uma atmosfera inerte dentro do reator e numa terceira tubuladura foi colocado um agitador mecânico com a função de manter a mistura reacional o mais homogénea possível e a sua temperatura igual em todo o reator. A última tubuladura foi tapada e utilizada apenas para retirar amostras ao longo da reação, quando necessário. A montagem em questão está esquematizada no Anexo A.

Na mistura reacional estavam presentes o 1,4-butanodiol e o ácido itacónico, referidos anteriormente, na proporção de 2:1, mas também a hidroquinona (0,02 % m/m), utilizada com o objetivo de inibir as reações associadas às ligações duplas, visto serem necessárias para posterior fotorreticulação.

Foram realizadas duas reações, a diferentes temperaturas, 160 °C e 170 °C, mantidas constantes ao longo do processo, que deram origem aos poliésteres insaturados IB1 e IB2, respetivamente.

2.2.2. Determinação do Valor Ácido

Para a determinação do valor ácido (VA) foi necessária a preparação prévia de duas soluções. Uma de hidróxido de potássio (KOH), onde se dissolveram aproximadamente 1,4 g de KOH em etanol (EtOH) num balão volumétrico de 250 mL, e outra solução de 1 % (m/V) de indicador, neste caso, fenolftaleína, juntando 0,25 g desta a um balão volumétrico de 25 mL com EtOH [33].

Após a preparação destas soluções calculou-se o valor branco ($V_{\text{KOH branco}}$) destas. Colocaram-se 50 mL de etanol e 1 mL de fenolftaleína num erlenmeyer e adicionou-se,

lentamente, a solução de KOH que se encontrava numa bureta, até que se notou uma mudança de cor na primeira (transparente para rosa).

Para a determinação do valor ácido da amostra, o procedimento foi semelhante, porém adicionou-se, ainda, 0,8-1 g de amostra (m_{amostra}), retirada do reator, ao etanol e à fenolftaleína. Após a mudança de cor, retirou-se o valor de KOH utilizado nesta determinação ($V_{\text{KOH amostra}}$).

O objetivo deste procedimento foi aferir o fim da reação (25-50 mg KOH/g), utilizando a seguinte equação:

$$VA = \frac{(V_{\text{KOH amostra}} - V_{\text{KOH branco}}) \times N_{\text{KOH}} \times M_{\text{KOH}}}{m_{\text{amostra}}} \quad (\text{Equação 2.1})$$

Sendo N_{KOH} a normalidade da solução de KOH e M_{KOH} o peso molecular do KOH.

Para valores ácidos superiores a 70 mg KOH/g foram retiradas amostras da reação de 2 em 2 horas. Para valores de 60-70 mg KOH/g diminuiu-se o intervalo para 1 hora e, para valores menores do que 60 mg KOH, para 30 minutos. Dessa forma, obtiveram-se valores suficientes para o estudo do desenvolvimento da reação.

2.2.3. Reticulação Fotoquímica

Após a síntese dos polímeros IB1 e IB2, procedeu-se à respetiva reticulação fotoquímica, utilizando a lâmpada de modelo *UVGL-48, Multiband UV, Mineralight® Lamp*.

A quantidade de Irgacure® 2959 que seria necessário adicionar à mistura, de forma a atingir uma fotorreticulação ótima, era desconhecida. Por isso, foram testadas diversas percentagens, calculadas em relação ao número de moles de ligações duplas introduzidas na reação, 2 %, 4 %, 6 % e 8 %. O fotoiniciador foi adicionado ao produto resultante das reações e dissolvido com auxílio de agitação e calor.

Quanto ao tempo de fotorreticulação, foi também necessário encontrar um tempo ótimo, de forma a apurar o material com melhores propriedades, tendo, para o efeito, sido testados os tempos de 1, 3 e 5 minutos.

Para se proceder à irradiação com luz UV, foi uniformemente espalhada, com o auxílio de um espalhador, uma pequena quantidade da solução de polímero e Ir2959, com 1 mm de espessura, numa placa de vidro, previamente limpa com etanol e seca.

2.3. Métodos de Caracterização

Após a preparação dos filmes resultantes de cada polímero, procedeu-se à sua caracterização, de modo a aferir algumas propriedades dos materiais. Para tal, foram utilizadas várias técnicas analíticas, descritas nas secções seguintes.

2.3.1. Espectroscopia de Infravermelho com Reflexão Total Atenuada

A espectroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada (ATR-FTIR) é uma técnica que permite analisar amostras em qualquer estado físico, sólido, líquido ou gasoso, identificando os grupos funcionais presentes na mesma [34].

De modo a obter um espectro que permita a análise da amostra, faz-se incidir nesta um feixe de luz infravermelha, do qual parte da radiação será absorvida e outra parte transmitida. Visto que todos os grupos funcionais absorvem energia em diferentes frequências, pode-se então conhecer quais os que fazem parte desta amostra.

Neste trabalho foi utilizado o espectrofotómetro *Frontier FT-NIR/MIR Spectrometer*, da Perkin Elmer. Os espectros para análise foram registados com 64 scans, com 4 cm^{-1} de resolução. Para análise e estudo dos resultados obtidos, utilizou-se o programa *Spectrum* da Perkin Elmer.

2.3.2. Ressonância Magnética Nuclear

A análise por ressonância magnética nuclear passa por sujeitar a amostra em estudo a um campo magnético, que fará com que os núcleos dos átomos existentes nesta amostra absorvam a radiação eletromagnética e, posteriormente, a emitam novamente. Esta energia é quantificada e representada em forma de um espectro característico de ^1H RMN [35].

Esta técnica permite conhecer a estrutura química dos poliésteres obtidos na fase de síntese e, em conjunto com o ATR-FTIR, aferir a eficácia do procedimento experimental.

Para dar início à análise, dissolveram-se 11 mg de cada amostra (IB1 e IB2) em 1 mL de clorofórmio-deuterado, introduziu-se a solução resultante num tubo de RMN de paredes finas, posteriormente enviado para o Laboratório de RMN no Centro de Química de Coimbra, onde foi analisada num espectrómetro de 9.4 Tesla, com uma sonda TXI de 5 mm.

2.3.3. Determinação do Teor de Gel

A determinação do teor de gel permite conhecer o grau de reticulação dos filmes produzidos. Todos os tempos de reticulação (1, 3 e 5 minutos) foram testados e, para cada um deles, foram realizadas 3 análises idênticas, de forma a garantir a sua reprodutibilidade.

Cada um dos filmes secos foi pesado (W_i) e colocado dentro de um vial com 5 mL de éter dietílico, durante 24 horas, sob agitação. A função deste solvente é dissolver qualquer resíduo de pré-polímero presente nos filmes. Após 24 horas as amostras foram retiradas, secas, em estufa de vácuo, e pesadas até se atingir um valor constante (W_f). O teor de gel foi então calculado com recurso à Equação 2.2.

$$\text{Teor de Gel} = \frac{W_f}{W_i} \times 100 \quad (\text{Equação 2.2})$$

2.3.4. Capacidade de Absorção de Água

A capacidade de absorção de água permite conhecer o comportamento dos filmes em ambientes húmidos, analisando o aumento da sua massa resultante da absorção de humidade.

Foram produzidos nove adesivos de cada pré-polímero (IB1 e IB2), três para cada tempo de reticulação fotoquímica, mais uma vez, de modo a garantir a reprodutibilidade deste teste. Cada um dos filmes produzidos foi pesado e seco em estufa de vácuo para nova pesagem, até peso constante (W_s), permitindo aferir a quantidade de água presente inicialmente na estrutura do filme, proveniente da reação de policondensação. De seguida, foram colocados num exsiccador, que continha uma solução saturada de sulfato de cobre pentahidratado, com humidade relativa de 95 %.

Foram estipulados vários tempos de interesse para esta análise, 24 horas, 72 horas, 1, 2, 3, 4 e 6 semanas, ao fim dos quais, as amostras foram retiradas e pesadas, tendo-se dessa forma determinado os valores do peso húmido (W_h). Uma vez obtidos todos os valores necessários, foi possível calcular este parâmetro através da Equação 2.3.

$$\text{Capacidade de absorção de água} = \frac{W_h - W_s}{W_s} \times 100 \quad (\text{Equação 2.3})$$

2.3.5. Degradação Hidrolítica em solução de PBS

Visto que a aplicação final dos bioadesivos, testados neste projeto, será o encerramento de incisões, a sua biodegradação, em ambientes como o do corpo humano, é de extrema relevância. Para tal, avaliou-se a variação de massa dos filmes ao longo do tempo, de modo a garantir a sua estabilidade durante o período de tempo previsto para o tratamento.

Em primeiro lugar preparou-se uma solução de PBS (tampão fosfato com pH de 7,4) que permitiu alcançar uma concentração salina idêntica à do plasma sanguíneo. De seguida, e da mesma forma que na caracterização anterior, para cada tempo de incubação (24 horas, 72 horas, 1, 2, 3, 4 e 6 semanas), foram produzidos nove filmes de cada pré-polímero em estudo, três para cada tempo de reticulação.

As amostras secas foram pesadas (W_i), colocadas em vials e submergidas em 5 mL da solução de PBS previamente preparada. Estes vials foram colocados na estufa, a 37 °C, de forma a reproduzir a temperatura fisiológica do corpo humano e, assim, poder estudar corretamente a respetiva biodegradação.

A cada tempo pré-definido, os vials foram retirados, a solução de PBS foi removida, os filmes foram colocados numa estufa de vácuo e pesados até atingir um valor constante, obtendo-se, desse modo, o peso seco final (W_f).

A degradação hidrolítica representa, em percentagem, a perda de massa das amostras ao longo do tempo e é dada pela Equação 2.4.

$$\text{Degradação Hidrolítica (\%)} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100 \quad (\text{Equação 2.4})$$

2.3.6. Análise Térmica

Para a análise térmica, utilizou-se o método Analisador Térmico Simultâneo (SDT), que conjuga a Análise Termogravimétrica (TGA) com a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), o que permitiu utilizar apenas uma amostra para a recolha de dados, relativos a diversas propriedades.

A amostra foi submetida a um fluxo de calor controlado, previamente definido, no caso concreto, a gama de valores entre 25 °C e 600 °C com uma variação de 10 °C/min. Esta análise

permite obter resultados tanto de perda ou ganho de massa como de fluxo de calor libertado ou absorvido, propriedades que seriam testadas por TGA e DSC, respetivamente.

A temperatura de transição vítrea (T_g) é outro parâmetro de elevada importância na análise térmica das amostras, pois permite obter informações sobre a rigidez da cadeia polimérica dos adesivos. Assim, valores mais elevados de T_g estão associados a cadeias poliméricas mais compactas e rígidas, sendo expectável uma maior necessidade energética para que ocorra a movimentação da cadeia polimérica. Desta forma, valores mais baixos de T_g são conhecidos por facilitar o processo de fotorreticulação [36].

No entanto, o método SDT opera entre a temperatura ambiente e os 1500 °C, não permitindo assim a obtenção dos valores da temperatura de transição vítrea, visto que esta ocorre, geralmente e para este tipo de materiais, a temperaturas inferiores à temperatura mínima atingida por esta técnica.

Dada a importância desta temperatura, tanto no processo de fotorreticulação como na biodegradação do material, decidiu-se recorrer à análise DSC, de forma isolada, para a sua obtenção. As amostras, reticuladas e não-reticuladas, foram então submetidas, em atmosfera inerte, a um aumento de temperatura numa gama entre -80 °C e 150 °C, com uma velocidade de aquecimento de 10 °C/min, levado a cabo pelo equipamento *DSC Q100 V9.9 Build 303*.

2.3.7. Reologia

A reologia estuda o escoamento de materiais e as deformações que sofrem aquando da aplicação de uma força, o que permite conhecer a sua viscosidade [37].

Esta propriedade é da maior importância no que toca à aplicação do polímero no tecido a tratar, já que é a viscosidade do material que vai garantir, ou não, uma aplicação devida ao encerramento da incisão.

Para levar a cabo esta técnica, utilizou-se um reómetro de tensão controlada *Haake*, modelo RS1. Neste projeto, em concreto, a geometria escolhida para o sistema foi placa/placa C60-Ti, onde a parte rotativa é de titânio e a parte estacionária de aço inoxidável.

A viscosidade das amostras foi avaliada para as temperaturas de 25 °C e 37 °C, temperatura ambiente e temperatura fisiológica, respetivamente, já que serão estas as temperaturas a que o material será exposto quando aplicado. As taxas de cisalhamento foram determinadas ao longo do tempo.

2.3.8. Determinação de Ângulos de Contacto Dinâmicos

A determinação de ângulos de contacto dinâmicos permite conhecer a capacidade de molhabilidade dos materiais produzidos, avaliando assim a hidrofilicidade de cada material, para tal recorreu-se ao equipamento da *Dataphysics*, OCA 20.

Colocou-se o filme na plataforma do equipamento, após lavagem com EtOH e, de forma automática, deixou-se cair uma gota de água destilada na sua superfície. Registaram-se os dados até à sua estabilização ou até ser completamente absorvida por este. Na síntese dos adesivos teve-se o cuidado de tornar a superfície destes o mais regular possível, de modo a não comprometer a eficácia do teste.

O processo foi captado por vídeo, de modo a permitir ao software do equipamento calcular o ângulo de contacto entre a gota de água e a superfície do adesivo, para cada *frame* do vídeo, desde o momento em que a gota cai.

2.3.9. Biocompatibilidade

A biocompatibilidade é entendida como a capacidade de um determinado material e os produtos da sua degradação não provocarem respostas adversas nos tecidos/órgãos em que estão a ser aplicados, nem nos circundantes [38].

Por esta razão foram realizados estudos de viabilidade celular em que os filmes preparados foram colocados em contacto com fibroblastos humanos, obtendo assim a avaliação da citotoxicidade dos materiais em estudo.

Os testes foram realizados na Universidade da Beira Interior (UBI, Covilhã), utilizando protocolos previamente estabelecidos por esta.

2.3.9.1. Estudo da Viabilidade Celular na Presença dos Adesivos

O estudo da viabilidade celular permite avaliar a adesão e proliferação de células de fibroblastos humanos, quando em contacto direto com a superfície dos adesivos, fornecendo um perfil citotóxico dos mesmos.

Esta caracterização foi realizada segundo a técnica MTT, tendo em conta os protocolos definidos pela UBI e segundo a norma ISO 10993-5:2009. Primeiramente procedeu-se à esterilização dos adesivos, recorrendo à incidência, contínua e por um período de 1 hora, de luz UV. De seguida, foram cultivadas as células fibroblastos humanos, em contacto com as amostras, numa densidade de 10×10^3 células por amostra, em placas de 96 poços, em períodos de incubação de 1 e 3 dias. As células incubadas com EtOH (70 %) foram utilizadas como controlo positivo (K+), enquanto as células incubadas apenas com meio de cultura foram utilizadas como controlo negativo (K-).

No fim de cada tempo de incubação, o meio presente em cada poço foi retirado e substituído por 50 μ L de MTT (5 mg/mL de PBS). Posteriormente procede-se à incubação das células, a 37 °C, por um período de 4 horas, numa atmosfera com 5 % de CO₂. Por fim, com recurso a um leitor de microplacas *Biorad xMark*, a absorvância da solução colorida foi medida.

3. Resultados e Discussão

3.1. Síntese e Fotorreticulação dos Polímeros

Tal como se encontra descrito na Secção 2.2, o primeiro passo deste projeto tinha como objetivo a síntese dos poliésteres insaturados IB1 e IB2 (Figura 5), a qual foi levada a cabo pela reação de policondensação entre o ácido itacónico (AI) e o 1,4-butanodiol (BOD), a 160 °C e 170 °C, respetivamente (Anexo B). Os tempos de reação foram de 23 horas (IB1) e 18 horas e 30 minutos (IB2). Sendo a diminuição do tempo de reação uma das principais vantagens do aumento da temperatura na síntese dos poliésteres.

Esta reação foi realizada na ausência de quaisquer solventes ou catalisadores e sem a necessidade de funcionalização do polímero, sendo o AI o responsável pela presença de ligações duplas C=C no polímero final. Esta simplicidade na composição dos polímeros é uma vantagem inquestionável, trazendo benefícios económicos, ambientais e biológicos que tornam esta formulação bastante promissora no mercado dos bioadesivos, enquanto dispositivos médicos.

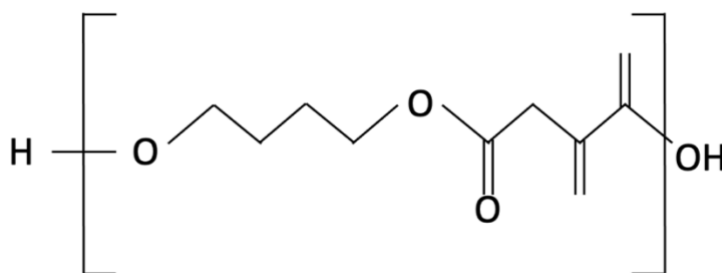


Figura 5. Estrutura química dos UPs IB1 e IB2.

De forma a estudar a aplicabilidade dos polímeros sintetizados enquanto adesivos cirúrgicos procedeu-se à reticulação fotoquímica dos mesmos. Para tal foi necessária a adição de um fotoiniciador, Irgacure[®] 2959, o qual foi testado em várias proporções, 2 %, 4 %, 6 % e 8 %, em relação à quantidade de ligações duplas C=C presentes nos polímeros. Obtiveram-se, assim, com tempos de irradiação de 1, 3 e 5 minutos, filmes transparentes com propriedades mecânicas diferentes. Os polímeros IB1 e IB2, responderam, sensivelmente, da mesma forma a cada uma

das condições de fotorreticulação testadas, sendo que, para 2 % de Ir2959, e para os vários tempos testados, nenhum dos dois apresentou as características pretendidas, visto que continuavam demasiado gelatinosos. Utilizando 4 %, 6 % e 8 %, as diferenças não foram notórias, preferindo-se assim estudar os filmes com 4 %, já que apresentavam uma quantidade mais baixa de fotoiniciador para uma mesma resposta.

Nas secções seguintes serão analisados os resultados obtidos nas diversas caracterizações efetuadas aos filmes produzidos, analisando a influência da temperatura da reação de síntese e do tempo de reticulação nas propriedades de cada um dos filmes.

3.2. Análise por ATR-FTIR

A análise por ATR-FTIR foi aplicada a todas as amostras, tanto aos materiais não reticulados (IB1 e IB2) como aos filmes, com o objetivo de identificar os grupos funcionais e as ligações químicas presentes nos mesmos.

As frequências e estrutura química dos grupos funcionais presentes nos materiais testados encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3. Frequências e estruturas químicas dos grupos funcionais presentes nos UPs [39].

Grupo Funcional	Estrutura Química	Frequência (cm ⁻¹)
Hidroxilo	— OH	3200 - 3570
Alquilo	— CH ₂ —	2935 - 2915 2865 - 2845
Éster	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{— C — O —} \end{array}$	1750 - 1725
Carboxílico	$\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{— C} \\ \backslash \\ \text{OH} \end{array}$	3300 - 2500 1725 - 1700
Alceno	— C = C —	1680 - 1600

Primeiramente procedeu-se à análise dos poliésteres insaturados não reticulados, IB1 e IB2. Os espectros obtidos por ATR-FTIR estão representados na Figura 6.

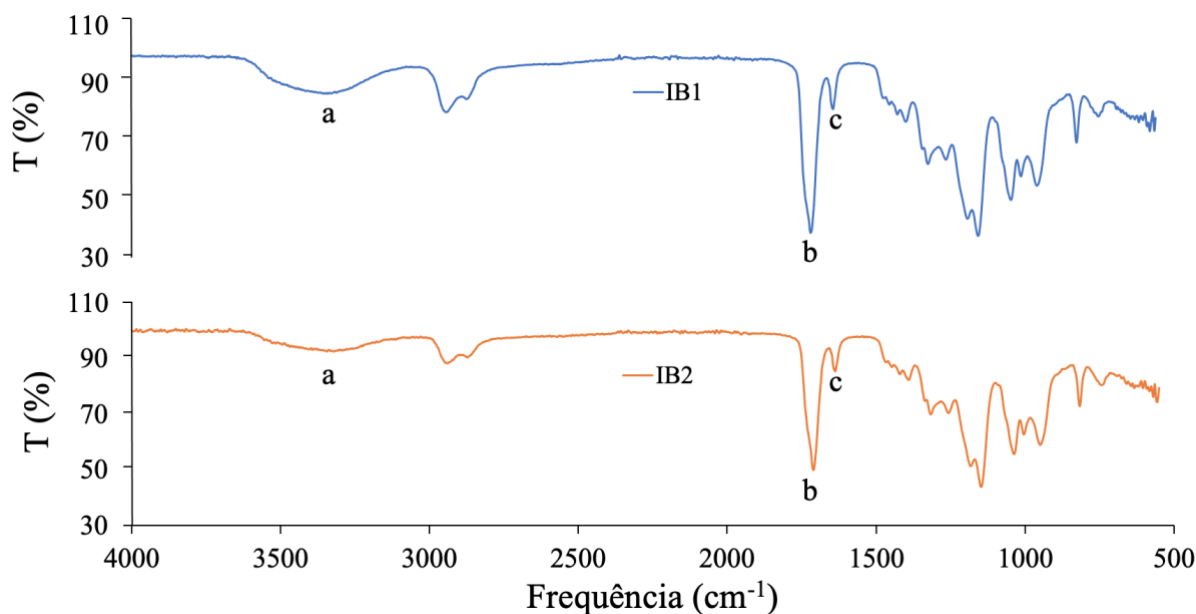


Figura 6. Espectros ATR-FTIR dos UPs IB1 e IB2.

Pela análise dos espectros referentes ao material não reticulado, verifica-se, como era previsto, a presença de uma banda de absorção entre os $1750 - 1725 \text{ cm}^{-1}$, representada por (b), característica do grupo éster, como se pode comprovar na Tabela 3. Designada por (c) está a banda de absorção entre os $1680 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ confirmando a presença de ligações duplas ($\text{C}=\text{C}$) na estrutura dos poliésteres, o que tornará possível a reticulação dos mesmos.

Verifica-se, ainda, a presença de uma banda de absorção entre os $3200 - 3750 \text{ cm}^{-1}$, (a), que corresponde à elongação do grupo hidroxilo, sugerindo a presença de grupos OH por reagir na estrutura do material. É possível verificar que esta banda é mais acentuada no espectro referente à reação IB1, sugerindo que o 1,4-butanodiol encontra-se em maior quantidade nesta reação, ou seja, reagiu em menor quantidade quando comparado com a reação IB2. No entanto, no pico (b), que diz respeito ao grupo éster, também se verifica uma diminuição, quando a resposta esperada, tendo em consideração a diminuição da curva (a), seria o seu aumento.

Por último, e de forma a compreender de que forma a reticulação e a sua duração, influenciam a estrutura química dos materiais, procedeu-se à análise por ATR-FTIR dos vários filmes, para os diversos tempos de reticulação. Os espectros obtidos estão apresentados nas Figuras 7 e 8.

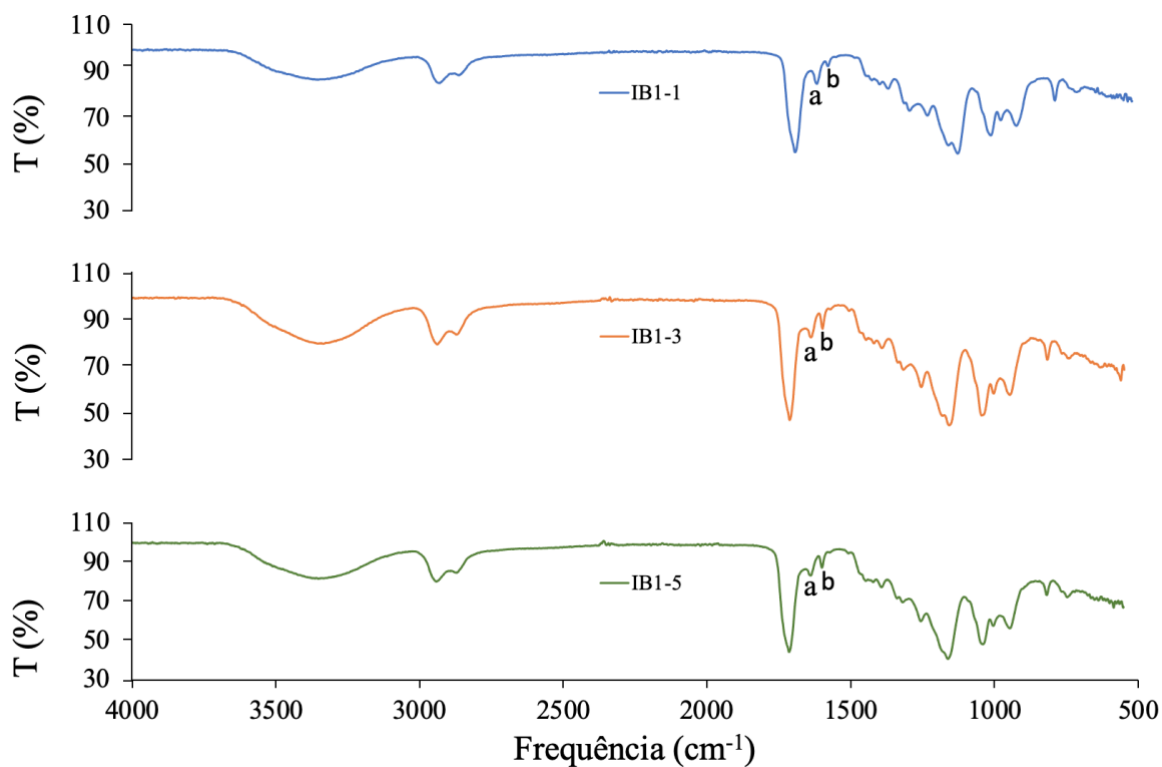


Figura 7. Espectros ATR-FTIR dos filmes IB1-1, IB1-3 e IB1-5, com 1, 3 e 5 minutos de reticulação, respectivamente.

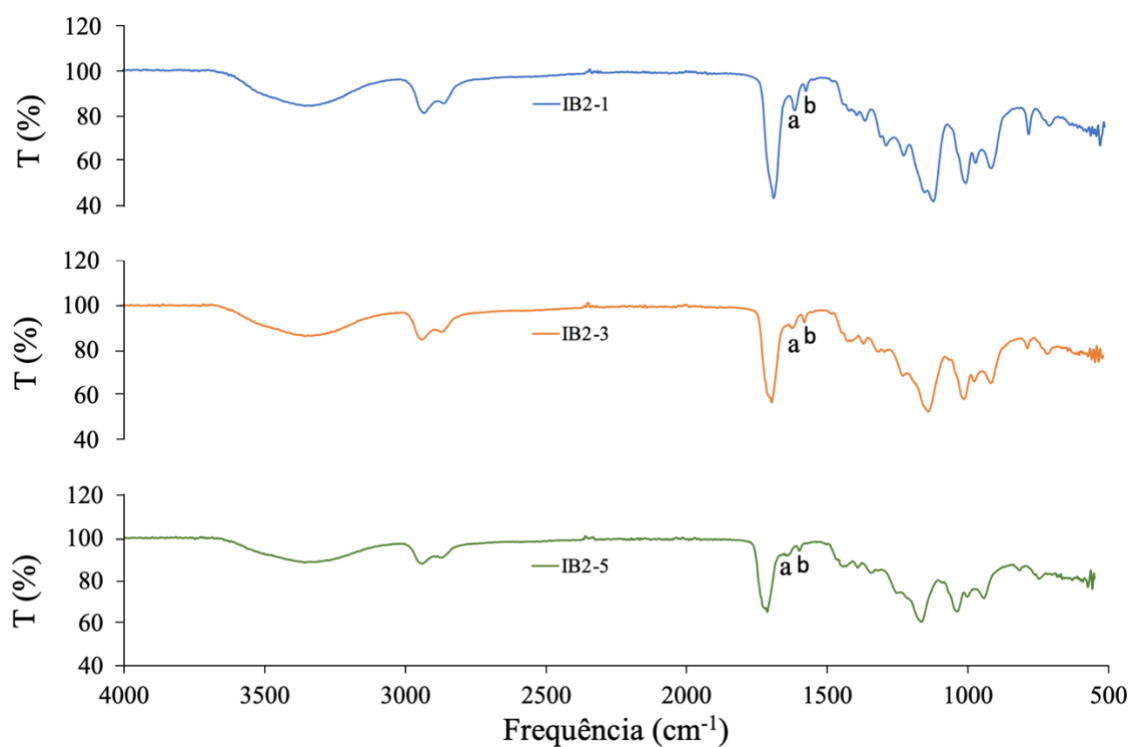


Figura 8. Espectros ATR-FTIR dos filmes IB2-1, IB2-3 e IB2-5, com 1, 3 e 5 minutos de reticulação, respectivamente.

Com base na análise das figuras anteriores verifica-se uma diminuição, em todos os casos, do pico referente às ligações duplas, representado por (a), o que era expectável, devido à conversão das mesmas durante o processo de fotorreticulação. No entanto, para os filmes com apenas 1 minuto de reticulação, observa-se, comparando com os espectros da Figura 6, que esta diminuição não foi tão evidente, sendo possível concluir que este tempo não é suficiente para a obtenção de uma reticulação adequada. Por sua vez, no espectro do filme IB2-5, a diminuição deste pico é bastante evidente, sendo, portanto, o adesivo com maior conversão de ligações duplas C=C e, por isso, o mais próximo de uma reticulação completa.

Apesar desta diminuição, existe o aparecimento de um novo pico, (b), que pode dizer respeito, novamente, a ligações duplas C=C, por ainda se encontrar na banda característica destas.

3.3. Análise de ^1H RMN

A análise de ^1H RMN permite identificar a composição das amostras testadas, complementando, assim, a análise realizada por ATR-FTIR. Na Figura 9 estão representados os espectros obtidos para IB1 e IB2, sobrepostos de forma a ser possível a sua comparação. Os espectros individuais encontram-se no Anexo C. Também neste anexo estão apresentados os espectros dos monómeros utilizados na síntese do poliéster, AI e BOD.

Para cada grupo funcional ou ligação química verificam-se picos em bandas de ressonância específicas, no entanto, estes podem desdobrar-se em multipletos com maior ou menor deslocamento químico, dependendo da estrutura da molécula e das interações nela existentes.

É de esperar, nos espectros em análise, a presença de um pico, em $\delta = 7,25$ ppm, correspondente ao clorofórmio deuterado (CDCl_3), utilizado como solvente na preparação das amostras [40].

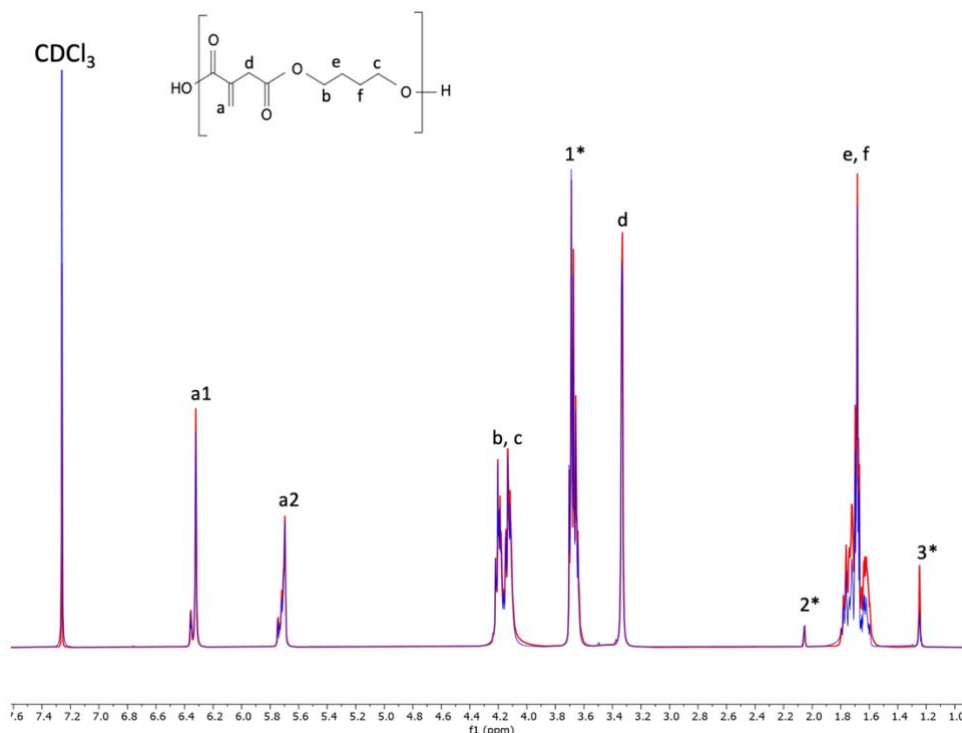


Figura 9. Espectro ^1H RMN dos UPs IB1 (vermelho) e IB2 (azul).

Através da análise dos espectros de ^1H RMN, presentes na Figura 9, é possível verificar a semelhança da composição dos dois poliésteres. Identificam-se os picos correspondentes às ligações duplas, representados por (a1) e (a2), características do ácido itacónico, que confirmam a insaturação do polímero final. São visíveis, ainda, dois picos, $\delta = 4,2$ ppm e $\delta = 4,1$ ppm, (b) e (c), respetivamente, que dizem respeito aos prótons dos grupos CH_2O do produto final (prótons na vizinhança do grupo éster (b) e prótons na vizinhança do grupo hidroxilo terminal (c)). Por sua vez, o pico (1*), representa, também, grupos CH_2O , no entanto, estes são provenientes do 1,4-butanodiol que não reagiu, visto encontrar-se em excesso em relação ao AI.

Na região dos 2,1 ppm observa-se um pico (2*) de pequenas dimensões, este pode ser atribuído à conversão, em pequena escala, do ácido itacónico em citraconato [41]. Os grupos CH_2 encontram-se representados pelo pico (d), $\delta = 3,3$ ppm, e pelos picos (e) e (f), entre 1,6 e 1,8 ppm, no entanto o pico (d) apresenta maior intensidade devido à presença de ligações duplas à sua volta.

Por último, o pico (3*), $\delta = 1,2$ ppm, correspondente a uma contaminação, associada ao silicone colocado nos vidros da montagem reacional, denominado “grease”.

3.4. Determinação do Teor de Gel

A determinação do teor de gel foi realizada com o objetivo de verificar o grau de reticulação dos filmes produzidos. Um teor de gel de 100 % representaria uma reticulação completa [19].

O tempo de exposição à irradiação UV é um fator determinante no que toca ao grau de reticulação dos filmes, sendo espectável que quanto maior for este tempo, maior será o teor de gel presente no adesivo [19]. De forma a comprová-lo, decidiu-se avaliar a influência que vários tempos de fotorreticulação têm nos valores de teor de gel. Seria de esperar, tendo por base os resultados de ATR-FTIR, que nenhum adesivo apresente uma reticulação completa. Os resultados obtidos estão representados na Tabela 4.

Tabela 4. Percentagem de teor de gel dos adesivos IB1 e IB2 para diferentes tempos de fotorreticulação.

Adesivo	t _{fotorreticulação} (min)	% Teor de Gel
IB1	1	42,4 ± 2,8
	3	79,9 ± 2,9
	5	87,5 ± 0,5
IB2	1	50,7 ± 1,6
	3	83,0 ± 0,9
	5	87,6 ± 2,5

Analisando a Tabela 4 constata-se que, tal como se esperava, quanto maior é o tempo de fotorreticulação, maior é o teor de gel do adesivo. É também possível confirmar que nenhum adesivo apresenta reticulação completa, tal como sugeriam os resultados de ATR-FTIR.

A temperatura de reação tem uma influência significativa no primeiro minuto de fotorreticulação, com o polímero sintetizado a 170 °C (IB2) a apresentar um teor de gel consideravelmente superior àquele que foi obtido a 160 °C (IB1). Mas esta influência vai-se esbatendo com o tempo de fotorreticulação, chegando-se a resultados de teor de gel idênticos para ambos os UPs ao fim de 5 minutos (88%). Estes valores não são satisfatórios para o fim pretendido, visto que o material não reticulado libertar-se-á no organismo, podendo acarretar alguma toxicidade para o mesmo.

3.5. Avaliação da Capacidade de Absorção de Água

A avaliação da capacidade de absorção de água de um material permite-nos obter informação sobre o seu comportamento hidrofílico ou hidrofóbico, quando em contacto com ambientes húmidos, como é o caso do organismo.

Uma elevada capacidade de absorção de água, que leve ao aumento excessivo do volume do adesivo, acima de 20 %, pode impedir o tratamento e regeneração da incisão e levar à ocorrência de lesões nos tecidos circundantes após a sua aplicação, devido à pressão por ele exercida nos vasos sanguíneos [12].

Este parâmetro foi calculado, recorrendo à Equação 2.3, como descrito na Secção 2.3.4.

Primeiramente estudou-se a quantidade de água inicialmente presente nos filmes, proveniente da reação de policondensação, chegando à conclusão que os filmes com base no polímero IB1 apresentam valores de cerca de $3,25 \% \pm 1,51 \%$ e os de IB2 rondavam os $2,81 \% \pm 1,07 \%$.

De seguida, e tendo em conta os tempos de estudo previamente estipulados, retirou-se os filmes do exsiccador e procedeu-se à sua pesagem. No entanto, os adesivos atingiram a capacidade de absorção máxima nas primeiras 24 horas, sendo esses os resultados apresentados na Figura 10, tendo começado a apresentar valores mais baixos a partir desse mesmo tempo, chegando mesmo a apresentar valores de peso húmido final inferiores ao de peso seco inicial, o que sugere que os adesivos, após as primeiras 24 horas, começam a sofrer degradação.

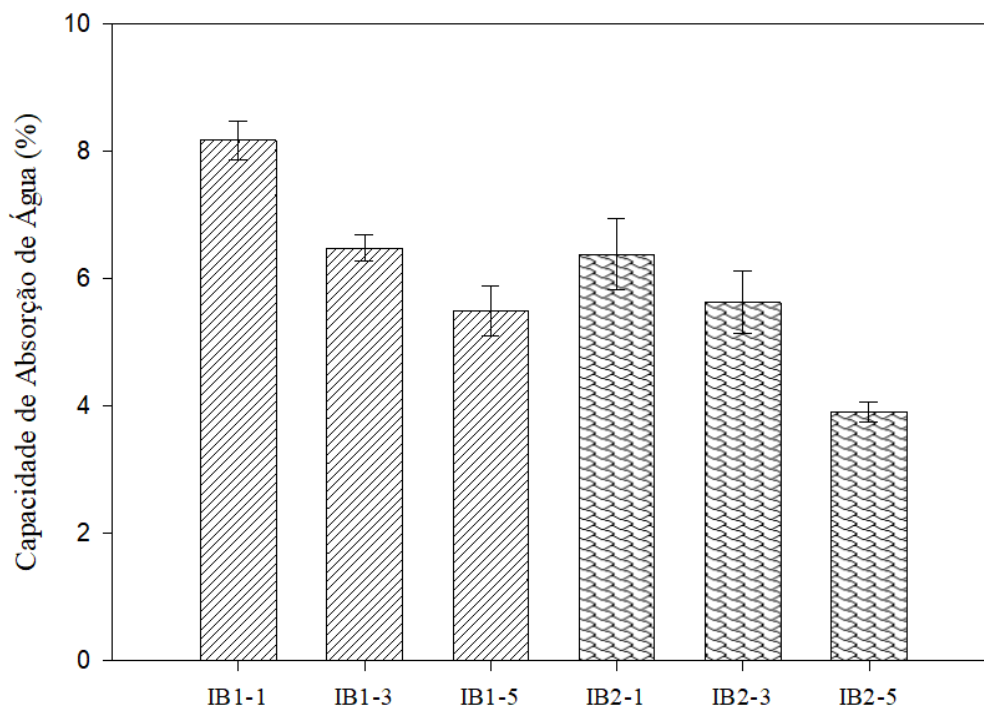


Figura 10. Valores da capacidade de absorção de água, em percentagem, para os adesivos desenvolvidos, após 24 horas de incubação em atmosfera saturada.

Pode constatar-se, pela análise da Figura 10, que quanto maior o tempo de exposição à radiação UV, menor capacidade de absorção os adesivos apresentam, pois um aumento no tempo de radiação confere-lhes uma estrutura cada vez mais compacta e rígida, dificultando a penetração da água no filme. É possível ainda observar que os filmes com base no polímero IB2 apresentam uma menor capacidade de absorção de água quando comparados com os valores obtidos para os filmes de IB1 com igual tempo de fotorreticulação. Isto pode dever-se ao facto do polímero IB1, por ter sido sintetizado a temperatura mais baixa que o IB2, ter cadeias poliméricas com peso molecular mais baixo, o que significa que haverá mais grupos terminais, sejam eles carboxílico ou hidroxilo. Estes grupos conferem um carácter mais hidrofílico às amostras de IB1, devido à sua polaridade.

Nas Figuras 11 e 12 estão apresentados os resultados de capacidade de absorção de água, dos materiais reticulados, num período de 7 dias, onde é visível a perda de massa por parte dos filmes ao longo desse tempo.

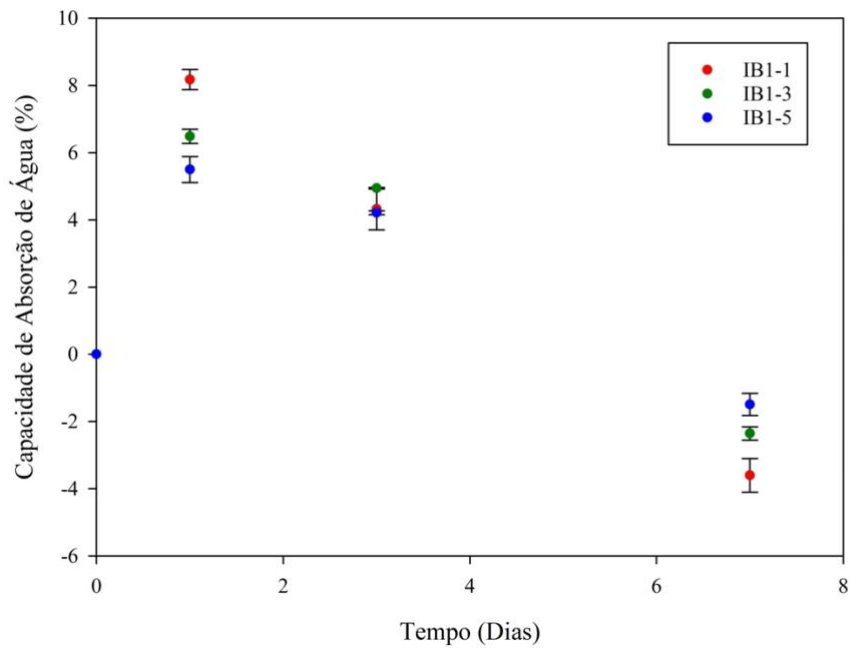


Figura 11. Capacidade de absorção de água dos filmes IB1-1, IB1-3 e IB1-5, com 1, 3 e 5 minutos de reticulação, respectivamente, por um período de 7 dias.

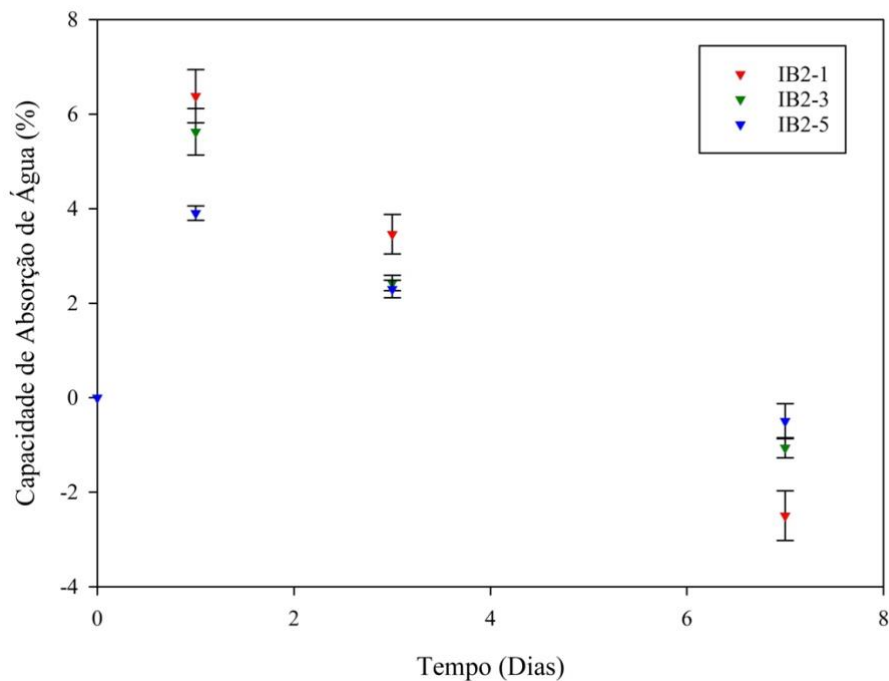


Figura 12. Capacidade de absorção de água dos filmes IB2-1, IB2-3 e IB2-5, com 1, 3 e 5 minutos de reticulação, respectivamente, por um período de 7 dias.

Quando se analisam as figuras anteriores, onde são visíveis as perdas de massa ocorridas durante a caracterização de capacidade de absorção de água, constata-se que quanto maior o

tempo de reticulação, menor será a sua degradação, o que pode ser justificado tendo por base os resultados de teor de gel, que sugerem uma percentagem de material não reticulado inferior nos filmes com maior tempo de reticulação, não sendo tão propícia a sua perda de massa.

3.6. Avaliação da Degradação Hidrolítica em PBS

A biodegradação é um dos aspetos mais importantes quando nos referimos a adesivos cirúrgicos, mais concretamente aos de utilização interna, visto ser do maior interesse que estes sejam absorvidos ou eliminados de forma natural pelo organismo, aquando da cicatrização total da incisão, evitando assim uma intervenção cirúrgica adicional para remoção dos mesmos. É ainda importante referir que os produtos da sua degradação devem ser igualmente biocompatíveis e biodegradáveis.

Como referido no Capítulo 2, a caracterização foi realizada durante 6 semanas (45 dias). Na Figura 13, estão representados os resultados obtidos com recurso à Equação 2.4.

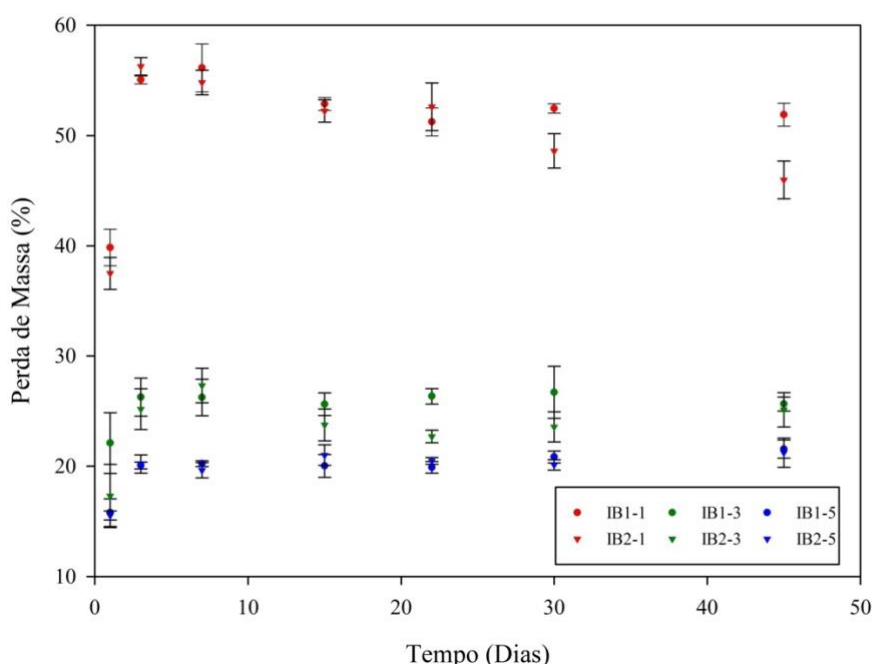


Figura 13. Perda de massa (%) dos adesivos IB1 e IB2 para os vários tempos de reticulação ao longo de 45 dias.

Analisando a Figura 13, verifica-se que todos os filmes apresentam uma perda de massa considerável nas primeiras 24 horas, o que pode dever-se à perda de massa correspondente ao material não reticulado presente na sua estrutura. A perda de massa aumenta até às 72 horas,

Resultados e Discussão

tempo a partir do qual a degradação desacelera e a massa dos adesivos mantém-se relativamente constante até ao fim do estudo.

Os adesivos IB1 e IB2 com tempo de reticulação de 1 minuto apresentam uma percentagem de perda de massa às 24 horas de cerca de 40 %, chegando mesmo a valores que rondam os 55 % ao fim de 72 horas. Já os adesivos com tempo de reticulação de 3 e 5 minutos exibem valores de degradação de cerca de 15 % e 20 %, respetivamente, ao fim de 24 horas. Este valor aumenta ligeiramente até às 72 horas. Pode então verificar-se que os adesivos com tempo de reticulação de 1 minuto apresentam maior perda de massa, o que pode dever-se ao facto de terem percentagens inferiores de teor de gel, ou seja, têm um grau de reticulação inferior ao dos restantes adesivos e, conseqüentemente, maior quantidade de material não reticulado na sua composição.

De forma a perceber melhor o que ocorre nas primeiras 72 horas, onde se dá a maior parte da perda de massa dos adesivos, decidiu-se realizar um novo teste para um período de 3 dias com intervalos de 12 horas (Figura 14).

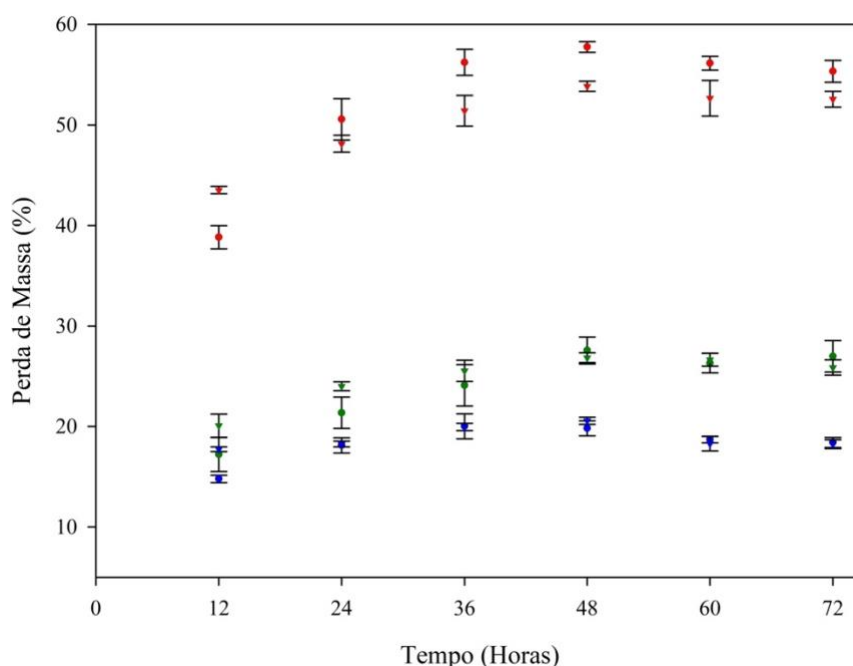


Figura 14. Perda de massa (%) dos adesivos IB1 e IB2 para os vários tempos de reticulação ao longo de 72 horas.

Pode verificar-se, pela Figura 14, um aumento dos valores de degradação até às 48 horas de estudo, estabilizando após esse tempo. Estes resultados, e os anteriores, sugerem que os adesivos em estudo apresentam uma degradação significativa nas primeiras 24h, porém, após esse tempo a sua degradação estabiliza. Estes resultados poderão influenciar a aplicabilidade

dos adesivos, no entanto, a biodegradação estudada neste capítulo, apenas diz respeito à degradação hidrolítica, enquanto no organismo a degradação é favorecida por diversos outros fatores, como por exemplo, enzimas extracelulares, células do sistema imunitário, entre outros.

3.7. Análise Térmica SDT

Esta análise foi realizada com o objetivo de estudar e avaliar a estabilidade térmica dos adesivos, antes e depois da fotorreticulação, aquando da sua exposição a um aumento controlado de temperatura até os 600 °C, de forma a obter os valores de temperatura de degradação (T_d). Assim, é possível verificar a sua aplicabilidade à temperatura fisiológica (37 °C) e ainda a possibilidade de sujeitar os adesivos a processos de esterilização a temperaturas elevadas.

A caracterização térmica permitiu obter o perfil de degradação de cada adesivo e ainda comparar a influência dos diferentes tempos de exposição à radiação UV na sua estabilidade térmica. Na Figura 15 estão representados os perfis de análise termogravimétrica dos produtos IB1 e IB2 (materiais não reticulados) e respetivas curvas DTG e na Tabela 5 os valores de interesse para a sua análise. Com objetivo apenas comparativo estão representadas, na Figura 16, as curvas DSC obtidas através da análise SDT.

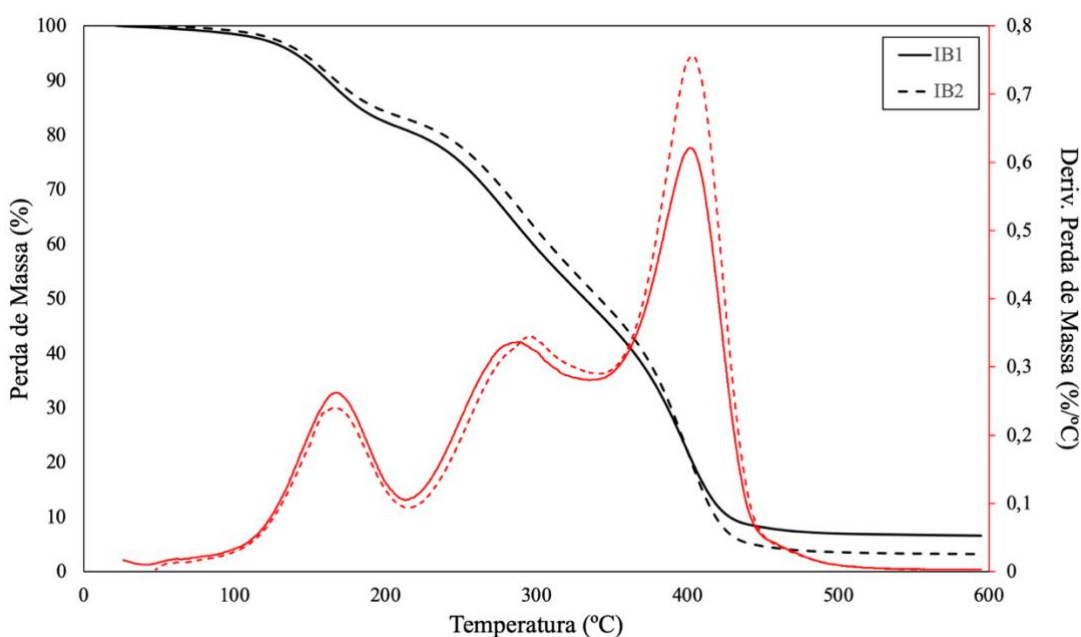


Figura 15. Perfil de degradação térmica de IB1 e IB2, obtido através de TGA e respetiva curva DTG.

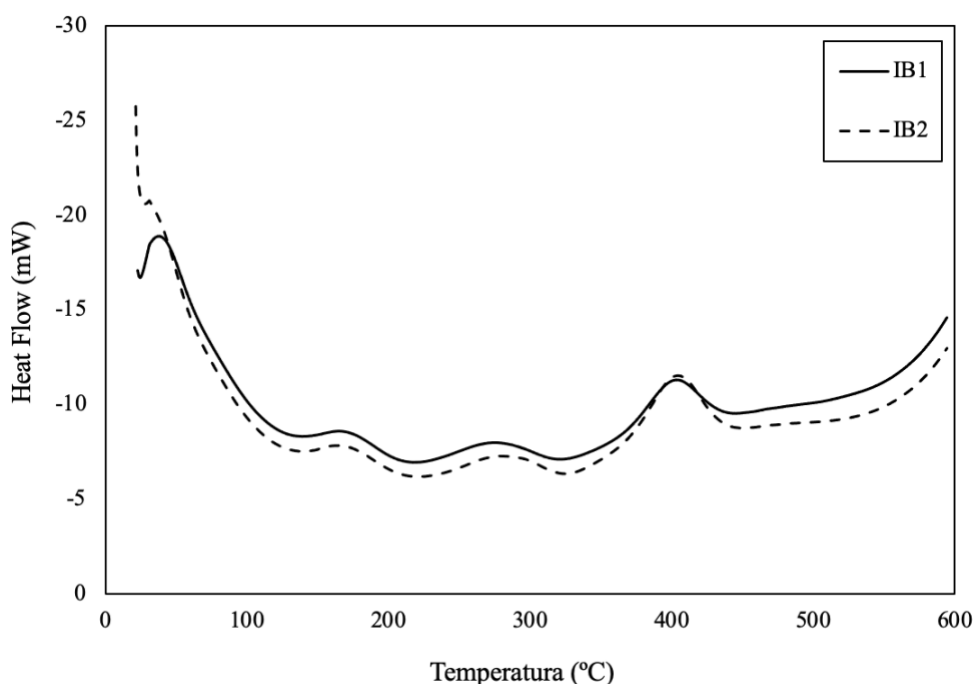


Figura 16. Curvas DSC dos polímeros IB1 e IB2 obtidos através da análise SDT.

Tabela 5. Temperaturas de degradação e correspondente percentagem de perda de massa de IB1 e IB2.

Amostra	1º Estágio		2º Estágio		3º Estágio	
	T _{d,max} (°C)	Perda de Massa (%)	T _{d,max} (°C)	Perda de Massa (%)	T _{d,max} (°C)	Perda de Massa (%)
IB1	163,24	19,45	285,32	48,81	400,24	91,23
IB2	162,30	17,73	290,96	50,25	401,54	94,31

Pela análise conjunta da Figura 15 e da Tabela 5, constata-se que ambos os polímeros apresentam três estágios de degradação, a temperaturas idênticas e as perdas de massa são, também, muito semelhantes. Isto seria espectável, visto que a composição química dos UPs IB1 e IB2 é a mesma. Pode ainda afirmar-se que a temperatura de reação não interfere significativamente na estabilidade térmica do material.

O primeiro estágio de degradação pode dever-se à ebulição da água adsorvida, enquanto que o segundo estágio, aproximadamente a 290 °C, pode ser justificado pela proximidade às temperaturas de ebulição do 1,4-butanodiol (235 °C) e do ácido itacónico (268 °C) ou ainda pela degradação das ligações éster presentes na estrutura química do polímero [25]. Por sua vez, o terceiro estágio de degradação, a 400 °C, pode estar relacionado com algumas reações de descarboxilação e carbonização [42].

No fim do teste, ambos os materiais apresentam algum resíduo, 6,57 % e 3,20 %, para IB1 e IB2, respetivamente.

Pela comparação das Figuras 15 e 16, verifica-se que os estágios de degradação correspondem às mesmas temperaturas, comprovando o que foi analisado anteriormente.

De forma a perceber de que forma o tempo de reticulação afeta a estabilidade térmica dos adesivos, fez-se a representação gráfica das curvas de TGA e respetivas derivadas para os materiais reticulados, Figura 17. Os valores de interesse estão apresentados na Tabela 6. As suas curvas de DSC, obtidas através da análise SDT, encontram-se no Anexo E, para possível comparação.

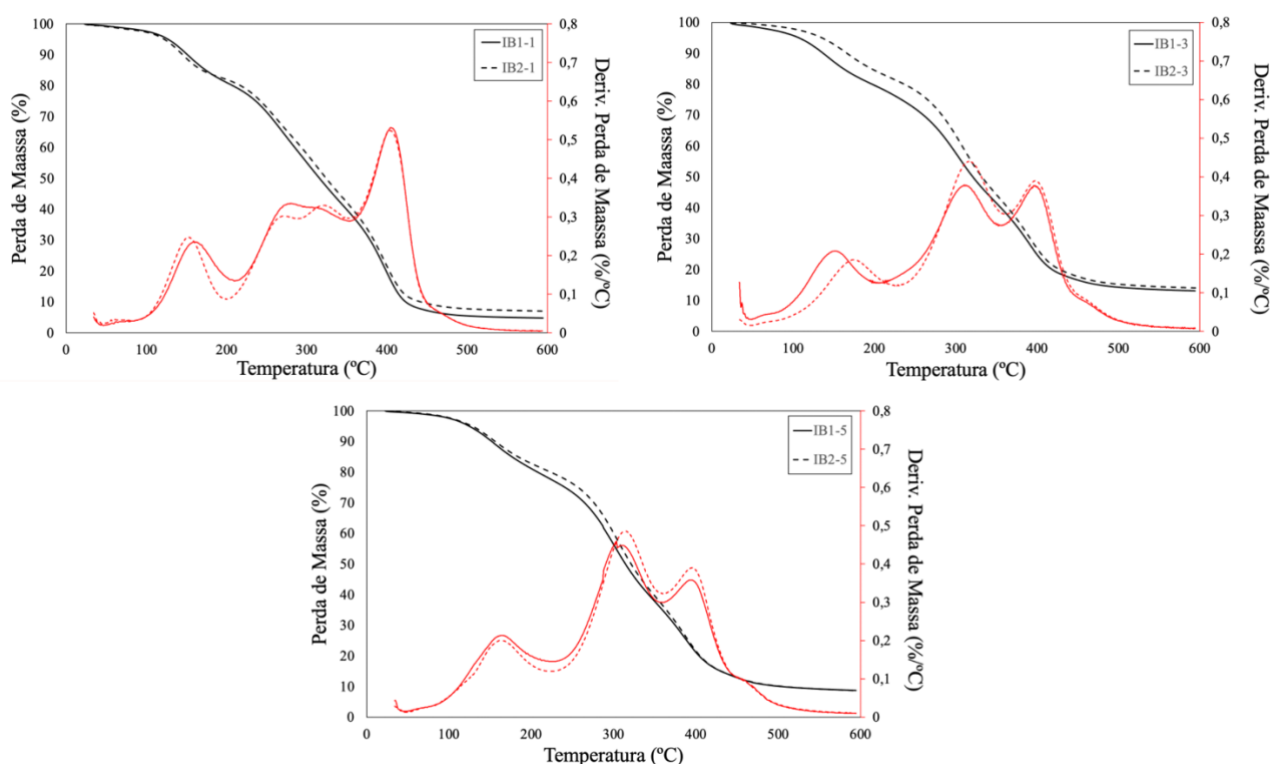


Figura 17. Curvas da derivada de TGA (DTG) dos vários filmes com diferentes tempos de reticulação.

Tabela 6. Temperaturas de degradação e correspondente percentagem de perda de massa dos filmes com diferentes tempos de reticulação.

Amostra	1º Estágio		2º Estágio		3º Estágio		4º Estágio	
	T _{d,max} (°C)	Perda de Massa (%)	T _{d,max} (°C)	Perda de Massa (%)	T _{d,max} (°C)	Perda de Massa (%)	T _{d,max} (°C)	Perda de Massa (%)
IB1-1	151,88	19,24	275,76	42,85	312,28	64,56	395,83	94,63
IB1-3	137,82	18,93	307,42	57,59	393,09	83,28	-	-
IB1-5	154,97	19,54	287,47	62,74	387,39	89,61	-	-
IB2-1	147,87	18,35	270,05	39,16	314,17	59,73	399,06	92,14
IB2-3	167,32	20,04	310,01	59,37	394,73	84,63	-	-
IB2-5	158,18	19,98	310,25	63,24	387,87	89,78	-	-

Com base na Figura 17 é possível verificar que os adesivos, para todos os tempos de reticulação, apresentam, tal como o material não reticulado, três estágios de degradação, à exceção dos IB1-1 e IB2-1, que apresentam quatro. Este estágio pode ser resultado de um desdobramento do terceiro estágio observado nos restantes filmes.

Analisando os valores apresentados na Tabela 6 observa-se que, na maioria dos casos, não existe discrepância entre os valores de IB1 e IB2 para os mesmos tempos de reticulação. No entanto, nos filmes com 3 minutos de reticulação, verifica-se um afastamento das curvas de DTG, o que sugere um perfil termicamente mais estável, até temperaturas de cerca de 310 °C, por parte do filme IB2-3, visto apresentar temperaturas de degradação superiores em relação ao IB1-3. É, ainda, o adesivo termicamente mais estável entre os seis em estudo, como se pode verificar pela Tabela 6.

No entanto, todos os materiais apresentam elevada estabilidade térmica, degradando apenas a temperaturas em muito superiores à temperatura fisiológica (37 °C), não comprometendo a sua aplicabilidade enquanto adesivos cirúrgicos.

Como é possível verificar pelas imagens anteriores, a análise SDT foi apenas realizada para temperaturas acima de 25 °C, impedindo a obtenção do valor de temperatura de transição vítrea (T_g), que como se esperava, se encontra abaixo da temperatura ambiente. De forma a ser possível a sua obtenção, realizou-se a análise DSC de forma individual, de -80 °C a 150 °C, com um aumento controlado de temperatura, 10 °C/min. Os resultados obtidos estão representados nas Figuras 18, 19 e 20.

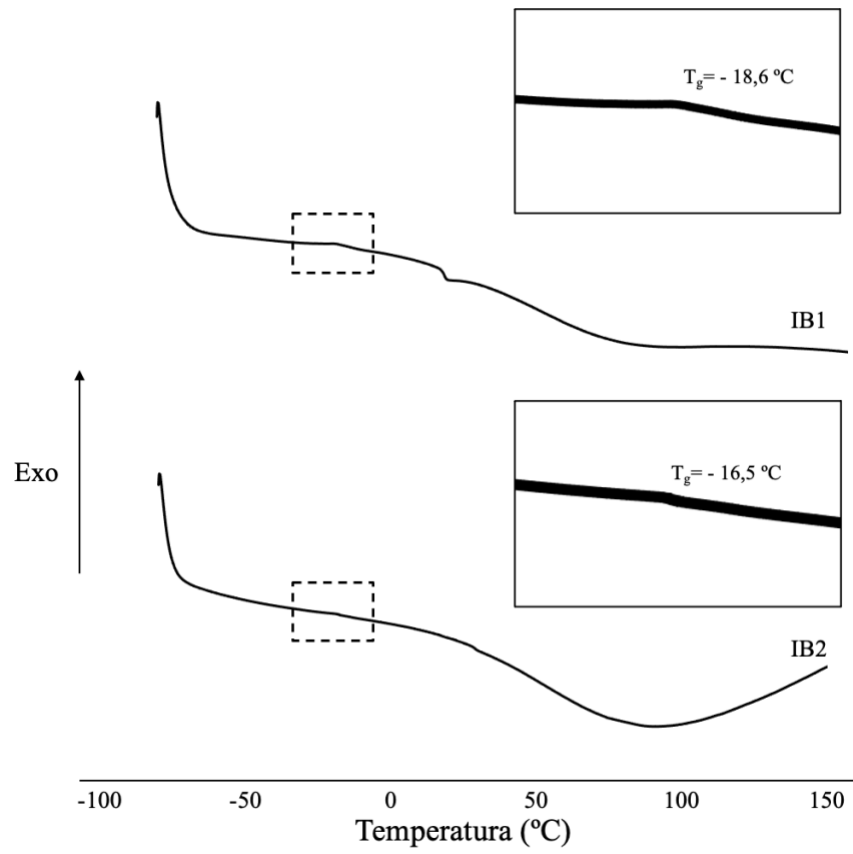


Figura 18. Curvas DSC dos polímeros não reticulados.

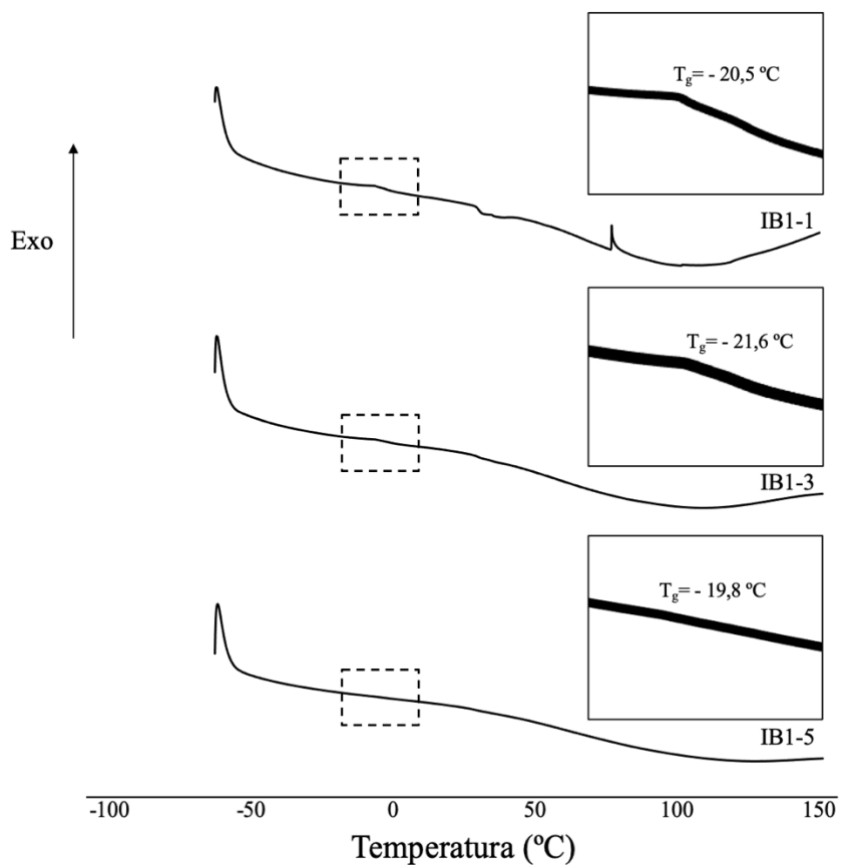


Figura 19. Curvas DSC dos filmes IB1-1, IB1-3 e IB1-5.

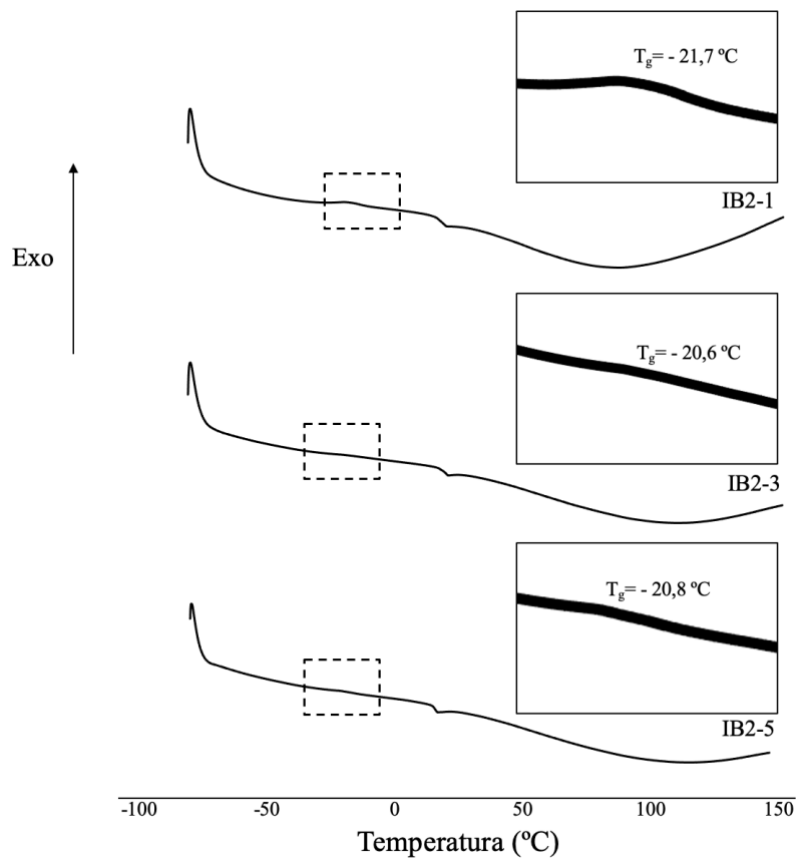


Figura 20. Curvas de DSC dos filmes IB2-1, IB2-3 e IB2-5.

Pela análise das figuras anteriores observa-se que, como era pretendido, todos os filmes apresentam T_g abaixo da temperatura ambiente, não colocando em causa a sua utilização enquanto adesivos cirúrgicos. No entanto, era de esperar que o tempo de reticulação tivesse influenciado os valores de T_g , visto que os filmes apresentam propriedades mecânicas muito diferentes à temperatura ambiente, quanto maior o tempo de reticulação mais rígidas e quebradiças ficam as suas estruturas. Seria necessário realizar testes mecânicos de forma a aferir o Módulo de *Young* de cada um, levando à corroboração, ou não, destes resultados.

É importante referir ainda que, devido a apresentarem apenas T_g , todos os materiais exibem estrutura amorfa.

É possível verificar uma curva, por volta dos 20 °C, em todos os materiais, reticulados e não reticulados, que pode ser justificada pela proximidade à temperatura de fusão do 1,4-butanodiol.

3.8. Reologia

O estudo da reologia possibilita a obtenção de informação acerca da viscosidade dos materiais. Esta característica é importante para a aplicabilidade do material, ou seja, uma correta aplicação do líquido não reticulado (IB1 e IB2) depende de valores de viscosidade adequados pois, se estes forem demasiado baixos, significa que o material é demasiado líquido e não se conseguirá contê-lo na superfície a tratar, enquanto que, para valores demasiado elevados, não será fácil o seu espalhamento.

Na Figura 21 estão representados os comportamentos de cada material, tanto para a temperatura ambiente (25 °C) como para a temperatura fisiológica (37 °C).

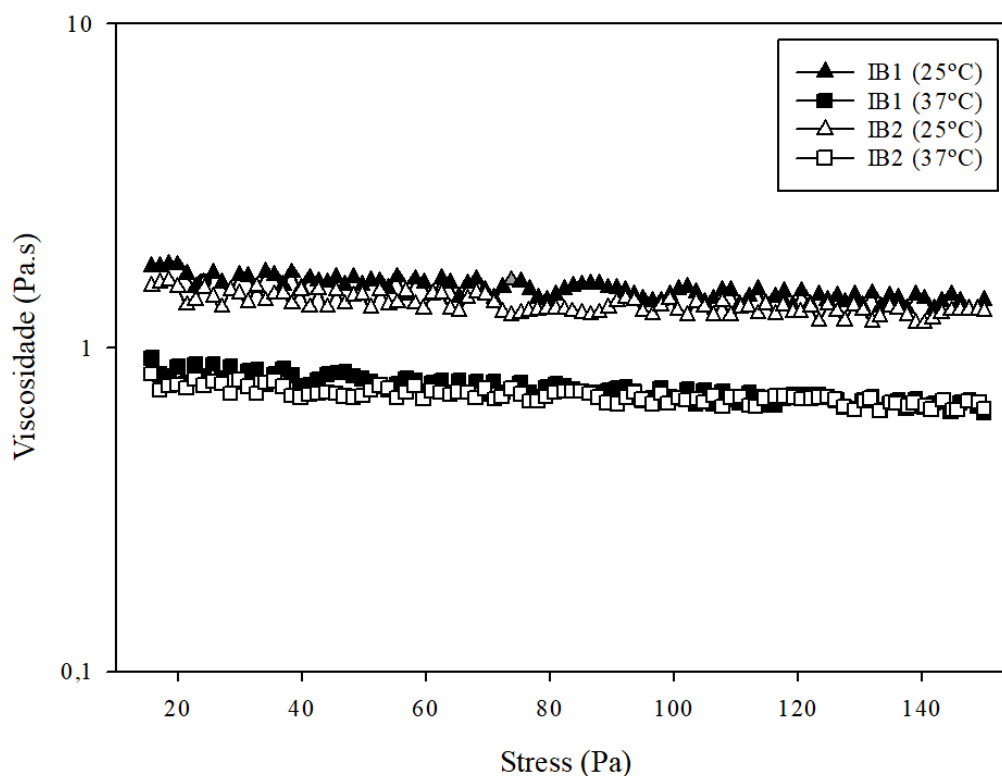


Figura 21. Resultados de reologia dos polímeros IB1 e IB2 para as temperaturas de 25 °C e 37 °C.

Analisando a Figura 21 constata-se que estes fluidos apresentam comportamento Newtoniano pois a sua viscosidade mantém-se sensivelmente constante com a subida dos valores de taxa de cisalhamento [11].

Os valores da viscosidade dos fluidos são mais elevados para a temperatura de 25 °C, como era de esperar, porém não existe grande discrepância em relação às de 37 °C, mantendo-se próximo de 1. Estes valores estão em conformidade com testes efetuados a adesivos cirúrgicos comerciais, portanto, pode afirmar-se que o IB1 e o IB2 apresentam viscosidade adequada para a sua aplicação enquanto dispositivos cirúrgicos [19].

3.9. Determinação de Ângulos de Contacto

A determinação dos ângulos de contacto entre uma gota de água e a superfície do material, neste caso do adesivo cirúrgico, permite a recolha de informação acerca da sua molhabilidade, característica responsável por diversos mecanismos biológicos dos quais resultará o tratamento adequado ou não da ferida, como a adesão das plaquetas e a coagulação do sangue [10].

Esta caracterização permite conhecer as propriedades hidrofílicas ou hidrofóbicas da superfície dos filmes, e em que medida o tempo de reticulação poderá influenciar estes resultados.

Nas Figuras 22 e 23 estão presentes os resultados obtidos pela caracterização de ângulos de contacto realizada a todos os filmes em estudo (IB1-1; IB1-3; IB1-5; IB2-1; IB2-3; IB2-5).

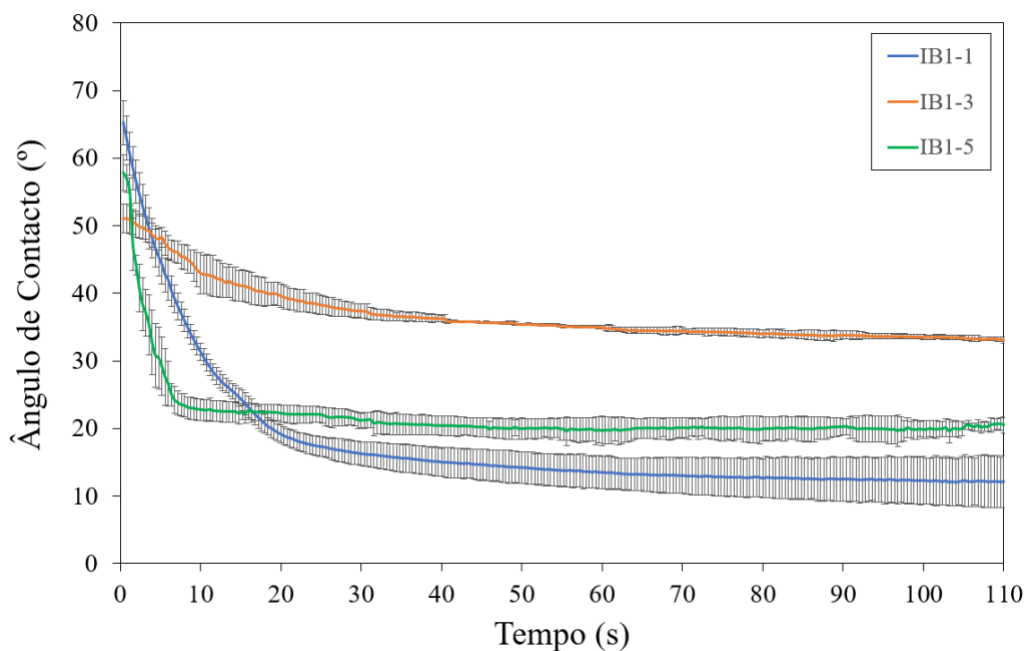


Figura 22. Ângulos de contacto para os filmes IB1-1; IB1-3 e IB1-5.

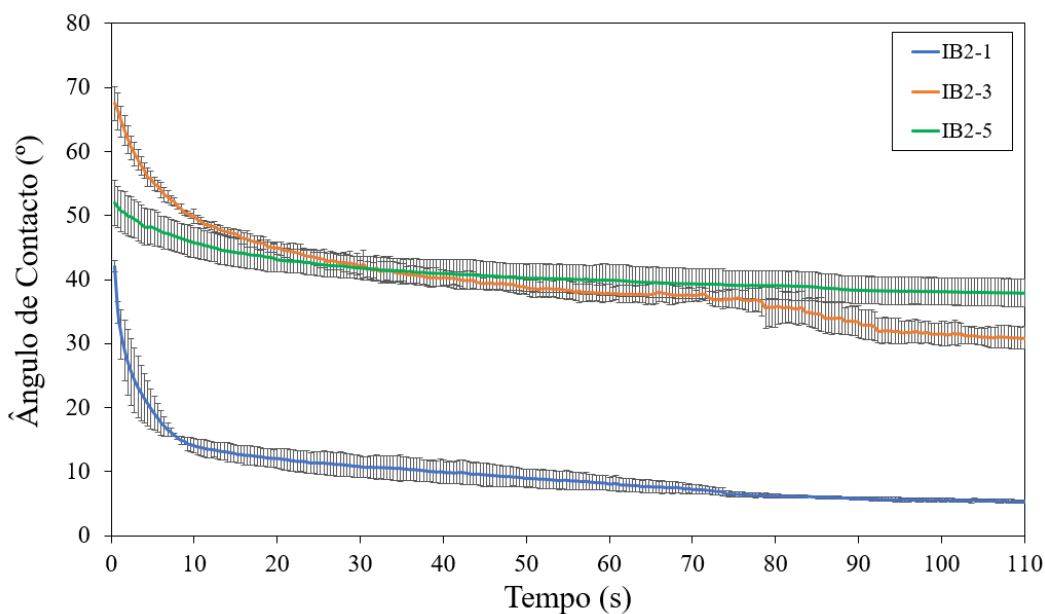


Figura 23. Ângulos de contacto para os filmes IB2-1; IB2-3 e IB2-5.

Analisando as figuras anteriores verifica-se que, de forma geral, os filmes apresentam um comportamento hidrofílico.

Os filmes IB1-1 e IB2-3 apresentam valores de ângulo de contacto inicial próximos de 65° e 70°, respetivamente. No entanto, o filme IB1-1 apresenta um ângulo de contacto final muito inferior ao do IB2-3, logo possui uma superfície mais hidrofílica que esta última.

Quanto aos filmes IB1-3, IB1-5 e IB2-5, apresentam um comportamento mais equilibrado, não se verificando elevados valores de ângulo de contacto inicial, nem ângulo de contacto final baixo.

Por último, o filme IB2-1 é o que apresenta um ângulo de contacto inicial mais baixo, revelando o seu carácter hidrofílico, e também um ângulo de contacto final mais baixo, sendo por isso o adesivo com maior poder de absorção.

Pode observar-se uma discrepância nos valores dos ângulos de contacto dos filmes IB1-5 e IB2-5, o que não era esperado. No entanto, esta diferença pode ser justificada pelo facto da lavagem dos filmes ser um processo manual, podendo ter deixado mais resíduos em uma destas, alterando assim a hidrofílicidade da sua superfície.

É de referir que nenhum dos filmes apresenta uma total absorção da gota (ângulo de contacto igual a zero).

3.10. Biocompatibilidade

Os estudos da biocompatibilidade são extremamente importantes, ainda para mais quando se trata de um material cirúrgico, pois permite avaliar o seu desempenho quando em contacto com células do corpo humano.

3.10.1. Estudo da Viabilidade Celular

O estudo da viabilidade celular foi realizado como descrito na secção 2.3.9.1. Na Figura 24 está exposta a resposta fisiológica das células quando na presença dos diferentes adesivos produzidos.

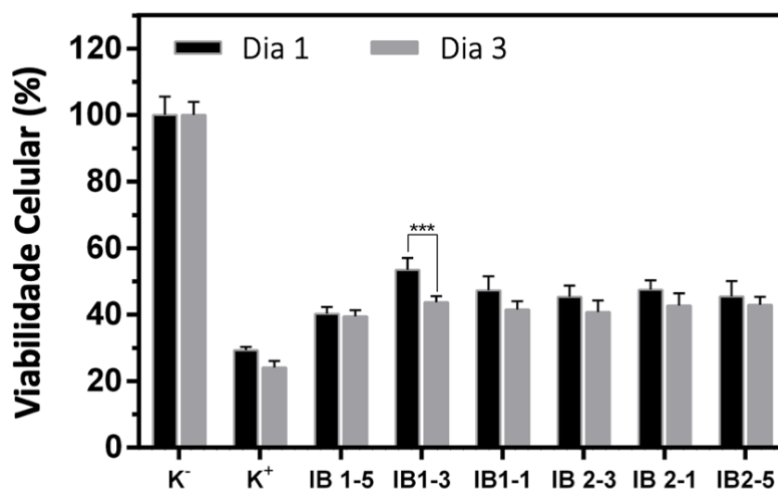


Figura 24. Avaliação da viabilidade celular após 1 e 3 dias de contacto com os diferentes adesivos. K⁻, controlo negativo e K⁺, controlo positivo.

Analisando a Figura 24, é possível concluir que todos os adesivos apresentam valores de biocompatibilidade idênticos, no entanto, não são valores promissores para a utilização dos materiais enquanto dispositivos cirúrgicos, visto que, para os tempos estudados, as células apresentam uma perda de viabilidade de cerca de 60 %. Este teste foi realizado após a lavagem dos filmes, e, portanto, na sua estrutura não estava presente material não reticulado, o que foi comprovado com a medição do pH do meio de cultura após o contato com os adesivos. No entanto, e apesar de não terem sido obtidos valores de pH ácido, os valores de viabilidade celular são inferiores ao pretendido, o que pode dever-se aos grupos carboxílico presentes na estrutura do filme.

4. Conclusão

A preparação de adesivos cirúrgicos foi levada a cabo por meio da síntese de poliésteres insaturados, com base em ácido itacónico e 1,4-butanodiol, posteriormente fotorreticulados, à temperatura ambiente, resultando em matrizes poliméricas uniformes e transparentes, ao fim de 1, 3 e 5 minutos.

Neste projeto, procurou-se entender, qual a influência que a temperatura utilizada na reação de policondensação, para a síntese dos UPs, e o tempo de reticulação dos filmes produzidos, teria nas propriedades finais dos adesivos cirúrgicos. Para tal procedeu-se à caracterização dos materiais obtidos.

Realizou-se a análise por ATR-FTIR e por ^1H RMN de forma a estudar as composições de ambos os UPs (IB1 e IB2), sendo visível a presença de ligações duplas ($\text{C}=\text{C}$), que permitiriam a fotorreticulação.

Apuraram-se os valores de teor de gel dos diversos filmes para todos os tempos de exposição à radiação UV, de modo a aferir qual a sua influência neste valor. Verificou-se que quanto maior o tempo de fotorreticulação, maior a percentagem de teor de gel, ou seja, maior grau de reticulação. Os valores de teor de gel obtidos rondam os 40 % no primeiro minuto, chegando mesmo a atingir valores próximos de 90 % ao fim de 5 minutos.

A capacidade de absorção de água foi estudada, também, para todos os filmes, por um período de 6 semanas, no entanto, estes atingiram o máximo de absorção nas primeiras 24 horas, resultando em valores entre 4 % e 8 %, valores esses que não revelam contraindicações aquando da aplicação do adesivo cirúrgico. Esta caracterização pode ser relacionada com a do teor de gel, visto que, quanto maior o grau de reticulação dos filmes, menor será a sua capacidade de absorção, como se observou.

Outra caracterização passível de ser relacionada com as últimas duas é a biodegradação. Verificou-se que materiais com graus de reticulação superiores e, conseqüentemente, menor capacidade de absorção, apresentam valores de degradação inferiores aos restantes. Os filmes com 1 minuto de reticulação possuem valores de degradação entre os 40 % e os 55 %, enquanto as restantes, com 3 e 5 minutos de reticulação, apresentam valores entre os 15 % e os 30 %. Todos estes valores foram atingidos nas primeiras 48 horas, sendo que após esse tempo os valores de biodegradação estabilizaram.

A análise térmica, tanto por SDT como por DSC, possibilitou o estudo da estabilidade térmica dos filmes. Comprovou-se que todos os adesivos em estudo, e materiais não

reticulados, apresentam elevada estabilidade térmica, não revelando nenhuma desvantagem na sua aplicação, quando exposto à temperatura fisiológica, 37 °C. Foi ainda possível aferir a T_g de cada material, pela análise DSC, concluindo-se que todas as temperaturas de transição vítrea são negativas.

Visto que a viscosidade de um material é uma das características mais importantes no que diz respeito à sua aplicação, fez-se um estudo reológico do material não reticulado, obtendo valores de viscosidade coerentes com os característicos de fluidos newtonianos. Assim, pode concluir-se que os poliésteres insaturados serão de aplicação fácil e controlada.

Foram ainda determinados os ângulos de contacto dinâmicos dos filmes, observando-se que o filme com caracter mais hidrofílico é o IB2-1.

Por último estudou-se a biocompatibilidade dos filmes produzidos. Estudo esse que levou à conclusão que os adesivos em estudo não apresentam características biocompatíveis, pondo em causa a viabilidade das células com as quais entram em contacto.

É importante referir que, em nenhuma das caracterizações anteriores, a temperatura de reação influenciou significativamente os resultados, o que nos permite concluir que um aumento na temperatura de reação leva apenas à diminuição do tempo de reação, tornando-se numa vantagem extremamente importante, principalmente quando se tem em vista a sustentabilidade.

4.1. Perspetivas Futuras

De forma a complementar alguns estudos realizados neste projeto, e a aprofundar o conhecimento sobre alguns aspetos que ficaram por estudar, são sugeridos de seguida alguns tópicos a desenvolver no futuro:

1. **Estudos de controlo de pH:** Realizar medições de pH ao polímero não reticulado e, caso apresente valores ácidos, proceder à sua neutralização.
2. **Repetição dos estudos de biocompatibilidade:** Após a possível neutralização do material não reticulado, sugere-se uma nova avaliação da biocompatibilidade dos materiais.
3. **Otimização da síntese do polímero:** Testar temperaturas mais elevadas na síntese dos poliésteres, de forma a verificar se os tempos de reação continuam a diminuir, enquanto as propriedades não sofrem alterações (180 °C-200 °C).
4. **Otimização do processo de fotorreticulação:** Testar tempos de fotorreticulação intermédios e superiores (2, 4 e >5 minutos).

5. Referências Bibliográficas

1. Armitage, J. & Lockwood, S. Skin incisions and wound closure. *Surgery* **29**, 496–501 (2011).
2. Venezuela, J. J. D., Johnston, S. & Dargusch, M. S. The Prospects for Biodegradable Zinc in Wound Closure Applications. *Adv. Healthc. Mater.* **8**, 1–15 (2019).
3. Cochetti, G. *et al.* Surgical wound closure by staples or sutures?: Systematic review. *Medicine (Baltimore)*. **99**, e20573 (2020).
4. Al-Mubarak, L. & Al-Haddab, M. Cutaneous wound closure materials: An overview and update. *J. Cutan. Aesthet. Surg.* **6**, 178 (2013).
5. Manavitehrani, I. *et al.* Biomedical applications of biodegradable polyesters. *Polymers (Basel)*. **8**, (2016).
6. Talbot, A. W. R., Meadows, A. E. R., Tyers, A. G. & Shah-Desai, S. Use of 7/0 Vicryl (coated polyglactin 910) and 7/0 Vicryl-rapide (irradiated polyglactin 910) in skin closure in ophthalmic plastic surgery. *Orbit* **21**, 1–8 (2002).
7. Barros, M., Gorgal, R., Machado, A. P., Correia, A. & Montenegro, N. Princípios básicos em cirurgia: Fios de sutura. *Acta Med. Port.* **24**, 1051–1056 (2011).
8. Duarte, A. P., Coelho, J. F., Bordado, J. C., Cidade, M. T. & Gil, M. H. Surgical adhesives: Systematic review of the main types and development forecast. *Prog. Polym. Sci.* **37**, 1031–1050 (2012).
9. Ferreira, P., Gil, M. H. & Alves, P. An overview in surgical adhesives. *Recent Adv. Adhes. Res.* 59–85 (2013).
10. Cernadas, T. M. *et al.* Preparation of biodegradable functionalized polyesters aimed to be used as surgical adhesives. *Eur. Polym. J.* **117**, 442–454 (2019).
11. Santos, M. *et al.* Polyester-based photocrosslinkable bioadhesives for wound closure and tissue regeneration support. *React. Funct. Polym.* **158**, 104798 (2021).
12. Cernadas, T. *et al.* Preparation of functionalized poly(caprolactone diol)/castor oils blends to be applied as photocrosslinkable tissue adhesives. *J. Appl. Polym. Sci.* **137**, 1–14 (2020).
13. Li, L. & Zeng, H. Marine mussel adhesion and bio-inspired wet adhesives. *Biotribology* **5**, 44–51 (2016).
14. Chapman, W. C. *et al.* A novel collagen-based composite offers effective hemostasis for multiple surgical indications: Results of a randomized controlled trial. *Surgery* **129**, 445–

- 450 (2001).
15. Dey, A., Bhattacharya, P. & Neogi, S. Bioadhesives in biomedical applications: A critical review. *Rev. Adhes. Adhes.* **8**, 130–152 (2020).
 16. Rathi, S., Saka, R., Domb, A. J. & Khan, W. Protein-based bioadhesives and bioglues. *Polym. Adv. Technol.* **30**, 217–234 (2019).
 17. Sanders, L. & Nagatomi, J. Clinical applications of surgical adhesives and sealants. *Crit. Rev. Biomed. Eng.* **42**, 271–292 (2014).
 18. Ioan, S. & Buruiana, L. I. Biodegradable polymers in tissue engineering. *Handb. Compos. from Renew. Mater.* **1–8**, 145–182 (2017).
 19. Cernadas, T. *et al.* Photocurable polymeric blends for surgical application. *Materials (Basel)*. **13**, 1–16 (2020).
 20. Gonçalves, F. A. M. M. *et al.* The potential of unsaturated polyesters in biomedicine and tissue engineering: Synthesis, structure-properties relationships and additive manufacturing. *Prog. Polym. Sci.* **68**, 1–34 (2017).
 21. Deopura, B. L., Alagirusamy, R., Joshi, M. & Gupta, B. *Polyesters and Polyamides. Polyesters and Polyamides* (2008). doi:10.1533/9781845694609.
 22. Guo, K. & Chu, C. C. Biodegradation of unsaturated poly(ester-amide)s and their hydrogels. *Biomaterials* **28**, 3284–3294 (2007).
 23. Fonseca, A. C., Lopes, I. M., Coelho, J. F. J. & Serra, A. C. Synthesis of unsaturated polyesters based on renewable monomers: Structure/properties relationship and crosslinking with 2-hydroxyethyl methacrylate. *React. Funct. Polym.* **97**, 1–11 (2015).
 24. Vilela, C. *et al.* The quest for sustainable polyesters-insights into the future. *Polym. Chem.* **5**, 3119–3141 (2014).
 25. Cernadas, T. *et al.* Functionalized polyester-based materials as UV curable adhesives. *Eur. Polym. J.* **120**, 109196 (2019).
 26. Ferreira, P., J. Coelho, J. F., F., J. & H., M. Photocrosslinkable Polymers for Biomedical Applications. *Biomed. Eng. - Front. Challenges* (2011) doi:10.5772/18752.
 27. Coimbra, P., Fernandes, D., Ferreira, P., Gil, M. H. & de Sousa, H. C. Solubility of Irgacure® 2959 photoinitiator in supercritical carbon dioxide: Experimental determination and correlation. *J. Supercrit. Fluids* **45**, 272–281 (2008).
 28. Santos, J. M. C. *et al.* Synthesis, functionalization and characterization of UV-curable lactic acid based oligomers to be used as surgical adhesives. *React. Funct. Polym.* **94**, 43–54 (2015).
 29. Sadler, J. M. *et al.* Isosorbide as the structural component of bio-based unsaturated

- polyesters for use as thermosetting resins. *Carbohydr. Polym.* **100**, 97–106 (2014).
30. Hiroaki Miyagawa, Amar K. Mohanty, Rigoberto Burgueño, Lawrence T. Drzal, M. M. Novel Biobased Resins from Blends of Functionalized Soybean Oil and Unsaturated Polyester Resin. 698–704 (2004) doi:10.1002/polb.
 31. Goerz, O. & Ritter, H. Polymers with shape memory effect from renewable resources: Crosslinking of polyesters based on isosorbide, itaconic acid and succinic acid. *Polym. Int.* **62**, 709–712 (2013).
 32. De Bari, I. *et al.* From cardoon lignocellulosic biomass to bio-1,4 butanediol: An integrated biorefinery model. *Processes* **8**, 1–18 (2020).
 33. Standard, L., Procedure, T. & Required, E. Acid Value Test Procedure. *Test* 1–3 (2007).
 34. Ramer, G. & Lendl, B. Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Encycl. Anal. Chem.* (2013) doi:10.1002/9780470027318.a9287.
 35. Dais, P. & Spyros, A. *Nuclear Magnetic Resonance. Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications* (Elsevier Inc., 2012). doi:10.1016/B978-0-12-384862-8.00004-2.
 36. Hakala, R. Crosslinked poly(ester anhydrides) for controlled drug delivery.
 37. Morris, B. A. Rheology of Polymer Melts. *Sci. Technol. Flex. Packag.* 121–147 (2017) doi:10.1016/b978-0-323-24273-8.00005-8.
 38. Anderson, J. M. Biocompatibility. *Polym. Sci. A Compr. Ref. 10 Vol. Set* **9**, 363–383 (2012).
 39. Coates, J. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. *Encycl. Anal. Chem.* 1–23 (2006) doi:10.1002/9780470027318.a5606.
 40. Farmer, T. J., Castle, R. L., Clark, J. H. & Macquarrie, D. J. Synthesis of unsaturated polyester resins from various bio-derived platform molecules. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 14912–14932 (2015).
 41. Teramoto, N., Ozeki, M., Fujiwara, I. & Shibata, M. Crosslinking and biodegradation of poly(butylene succinate) prepolymers containing itaconic or maleic acid units in the main chain. *J. Appl. Polym. Sci.* **95**, 1473–1480 (2005).
 42. Tomić, S. L. & Filipović, J. M. Synthesis and characterization of complexes between poly(itaconic acid) and poly(ethylene glycol). *Polym. Bull.* **52**, 355–364 (2004).

Anexos

Anexo A. Montagem Reacional

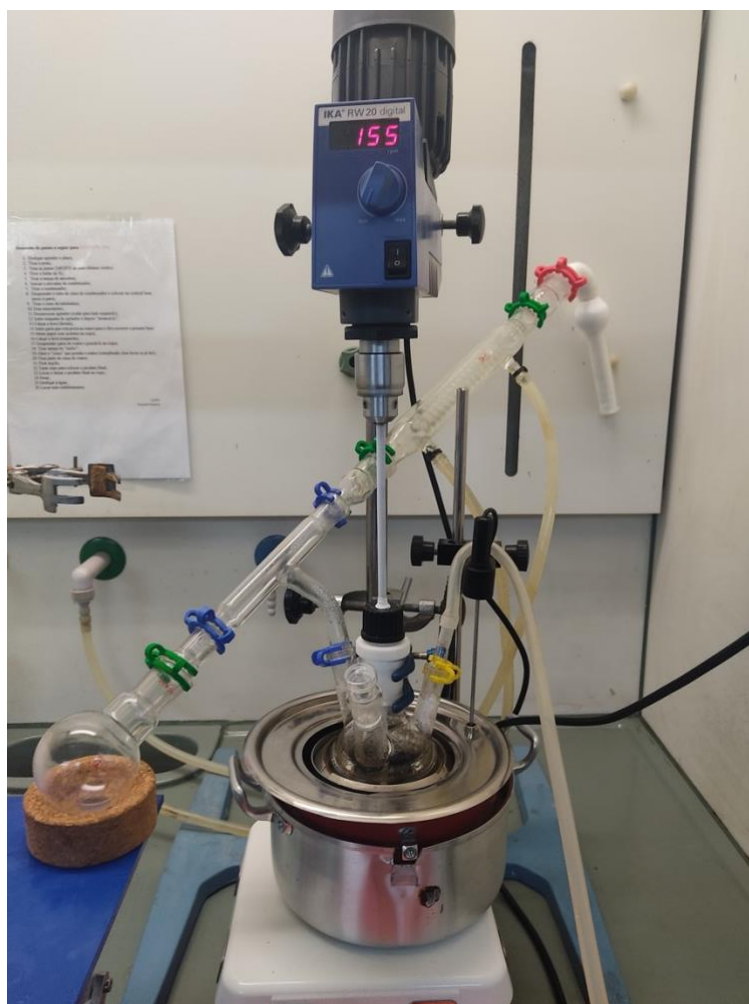


Figura A.25. Montagem reacional para a preparação de poliésteres insaturados.

Anexo B. Reação de Policondensação

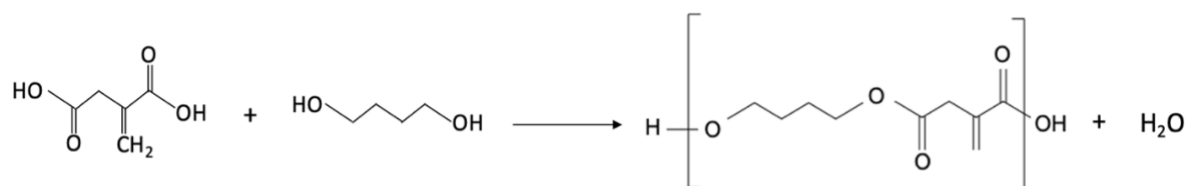
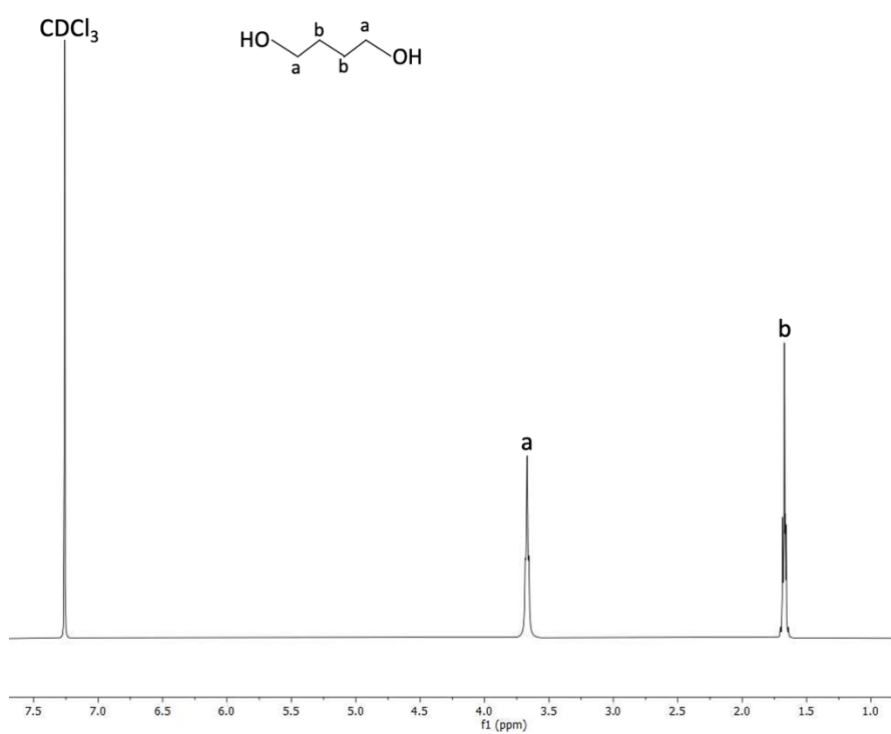
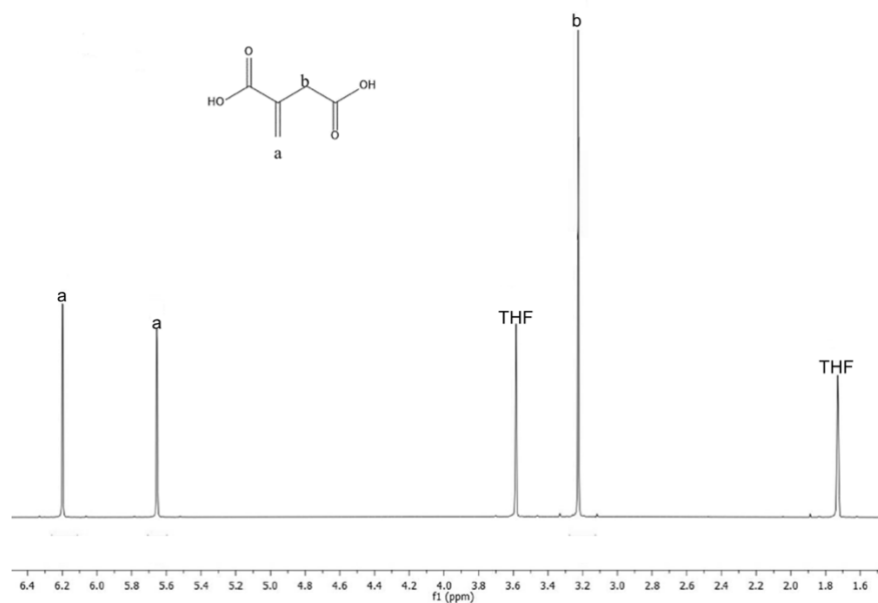


Figura B.26. Reação de policondensação entre o ácido itacônico e o 1,4-butanodiol.

Anexo C. Espectros de ^1H RMN**Figura C.27.** Espectro de ^1H RMN do 1,4-Butanodiol.**Figura C.28.** Espectro de ^1H RMN do ácido itacônico.

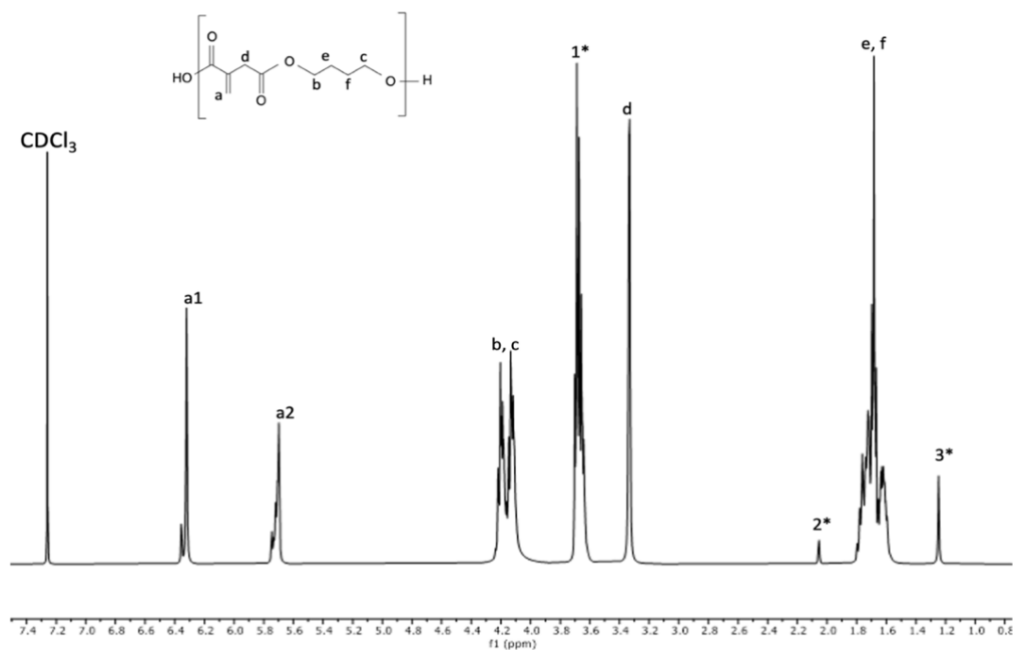


Figura C.29. Espectro de ¹H RMN do IB1.

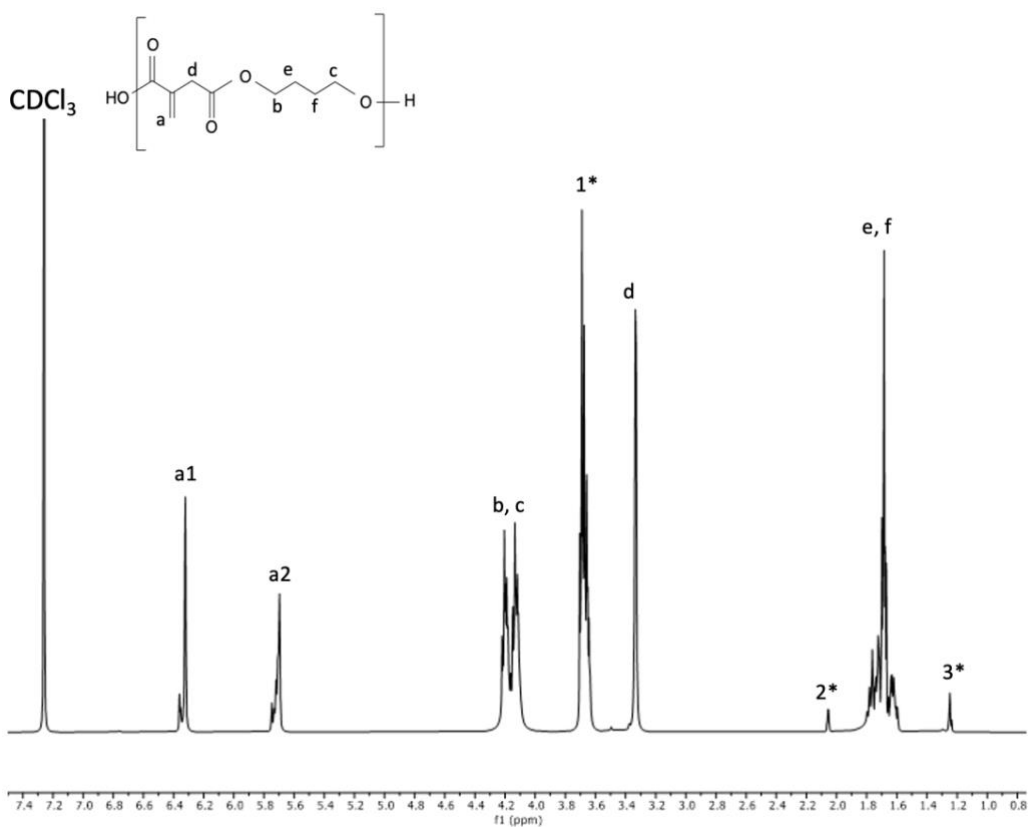


Figura C.30. Espectro de ¹H RMN do IB2.

Anexo D. Análise Térmica

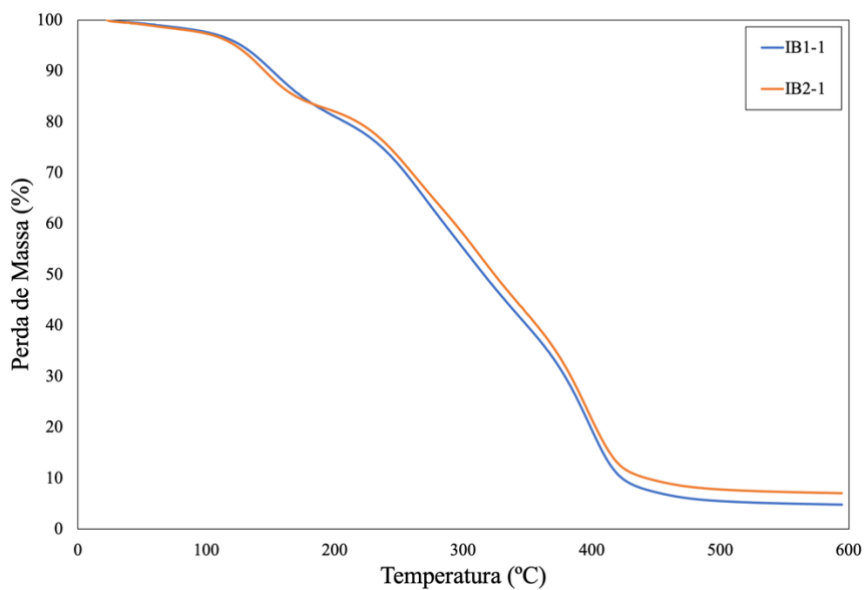


Figura D.31. Curva de TGA dos filmes IB1-1 e IB2-1.

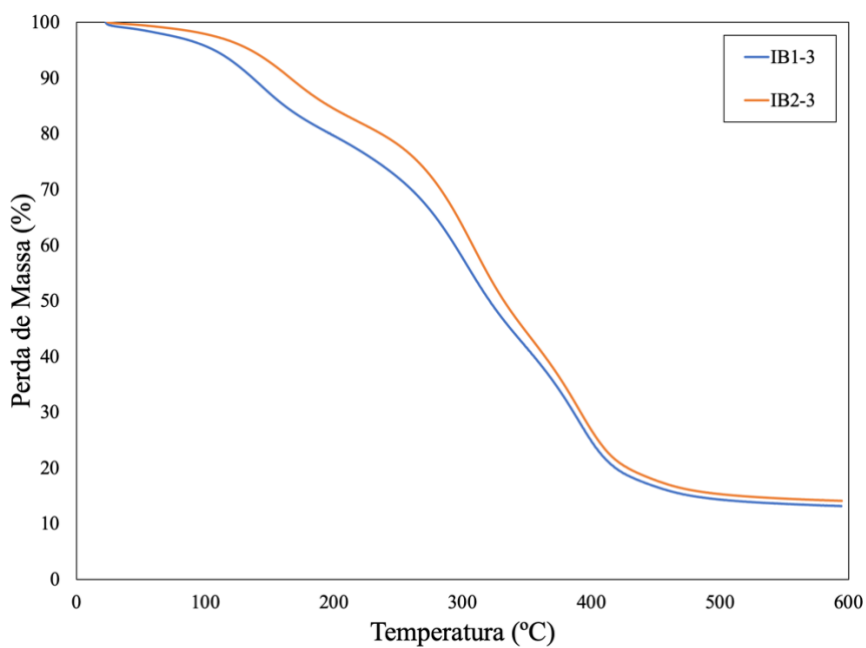


Figura D.32. Curva de TGA dos filmes IB1-3 e IB2-3.

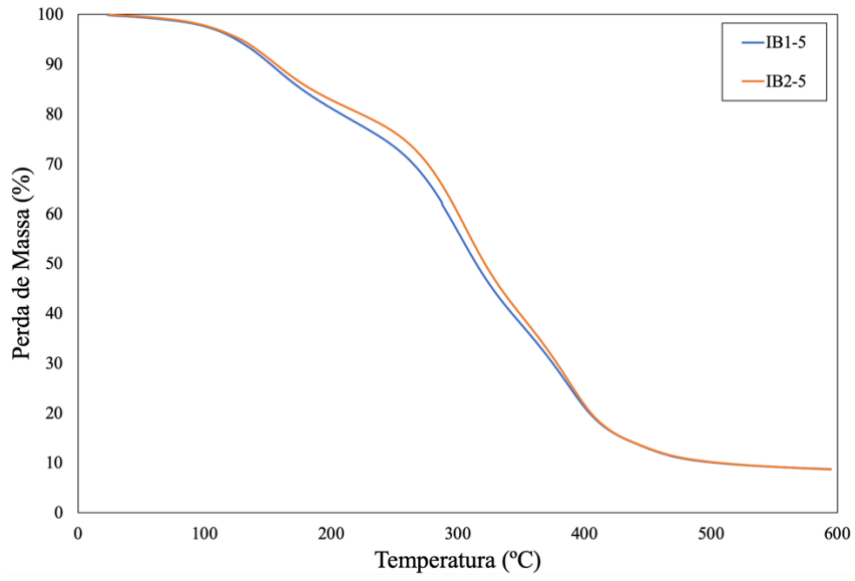


Figura D.33. Curva de TGA dos filmes IB1-5 e IB2-5.

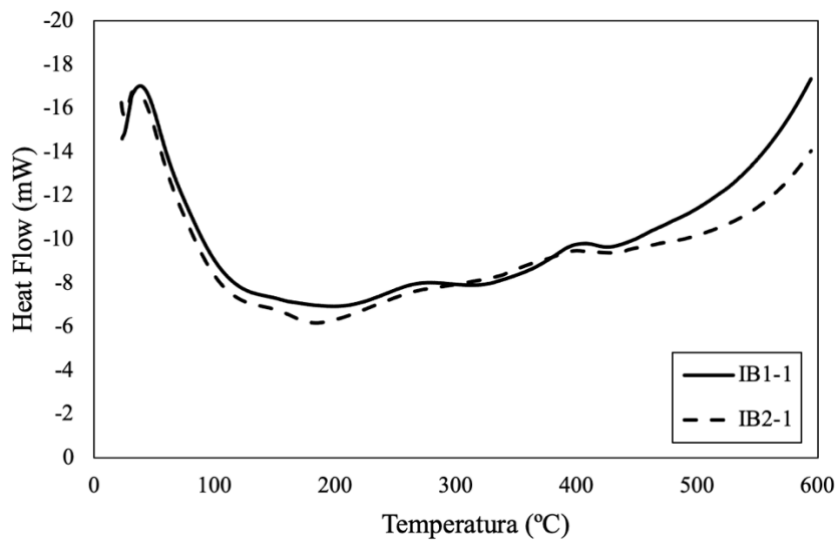


Figura D.34. Curvas DSC dos filmes IB1-1 e IB2-1, obtidas através da análise SDT.

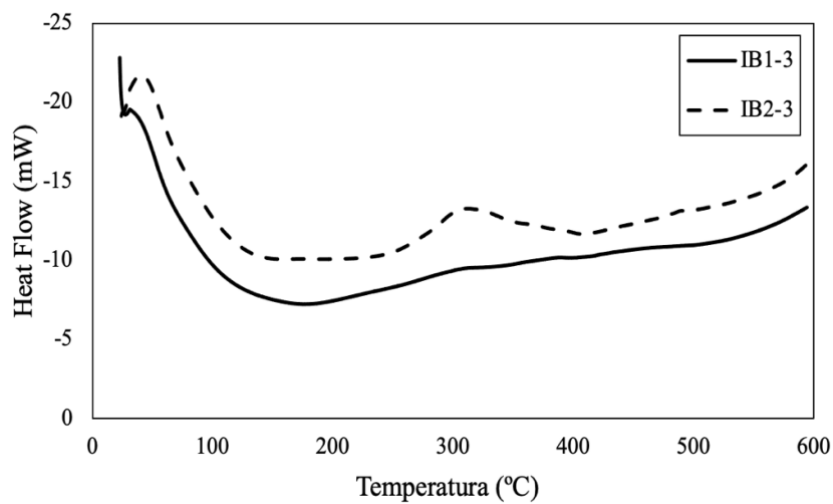


Figura D.35. Curvas DSC dos filmes IB1-3 e IB2-3, obtidas através da análise SDT.

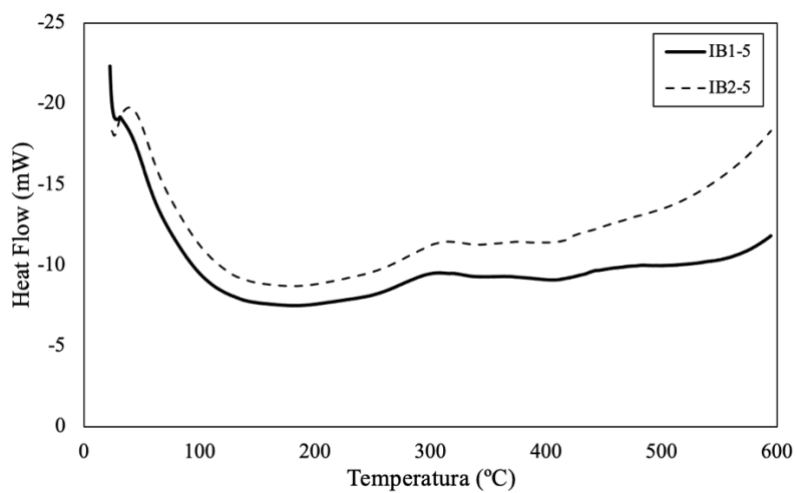


Figura D.36. Curvas DSC dos filmes IB1-5 e IB2-5, obtidas através da análise SDT.