



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Daniela Gomes Pereira

**PREPARAÇÃO DE POLÍMEROS FOTO-RETICULÁVEIS  
PARA APLICAÇÃO BIOMÉDICA**

**Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia Química orientada pela Doutora Paula Cristina Nunes Ferreira e pelo Doutor Marcos João Mota Leite Machado Mariz apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra.**

Outubro de 2021



## Agradecimentos

Antes de mais, agradeço desde já a todos aqueles que me ouviram, lidaram com os meus dramas e me ajudaram com a realização deste trabalho. Não tinha conseguido sem vocês!

À Doutora Paula Ferreira e Doutora Patrícia Alves, agradeço a disponibilidade, simpatia e discussões que, embora fossem sempre curtas, foram sempre esclarecedoras e com ideias para ser possível lidar com alguns problemas que se atravessaram. Agradeço ao Doutor Marcos Mariz a sua simpatia e ajuda na correção da escrita da dissertação.

À Teresa Cernadas, obrigada por tudo, por teres partilhado um bocadinho da tua vida comigo para que assim eu me sentisse mais à vontade contigo. Por todas as vezes que não estava tão animada durante este trabalho e de alguma forma, me conseguias incentivar. Pelos inúmeros conhecimentos, obrigada também.

Aos meus colegas, Beatriz Jardim e João Pereira, obrigada pelos ensinamentos transmitidos. Às meninas do B31, obrigada por me receberem com um “Oi” sempre tão alegre quanto o meu.

Aos meus amigos de Coimbra, André Simões, Beatriz Marona, Daniel Rodrigues, Diogo Dias, Diogo Salgueiro, Edmundo Sérgio, João Coutinho, João Lopes, José Campos, Mariana Rodrigues, Rodrigo Paredes, Rúben Gariso, Sofia Leão, Vanessa Silva, Vasco Araújo e Vítor Sousa, obrigada por fazerem de Coimbra a primeira casa durante estes 5 anos. À minha Paula e ao Hugo, obrigada não chega para vocês. À Joana e à Inês, pela sorte que tenho por vos ter comigo.

Aos meus amigos da vila, obrigada por estarem presentes.

Às minhas primas, Cat e Bibs, vocês são o melhor exemplo de amor de irmãs de coração. Obrigada por estarem presentes em todas as etapas da minha vida. Aos meus pais, que fazem tudo por mim, obrigada por ficarem sempre tão felizes com as minhas conquistas e por nunca me falharem. Tudo o que faço, é para vocês e por vocês. Aos meus avós, Polila e Hernani, obrigada por me ligarem todos os dias para saber se estou bem. Às minhas tias, Belinha e Mimi, que me tratam como se fosse filha, obrigada por isso. À minha irmã, Juliana, a pessoa que mais adoro e admiro no mundo, mil obrigadas por existires. Tu és o maior exemplo de amor que conheço.

Por fim, à minha avó Ana, que embora não tenha visto este último ano, sei que está muito orgulhosa de ter uma neta engenheira.

A todos, obrigada,  
Daniela Gomes Pereira



## Resumo

Nas últimas duas décadas, verificou-se uma tendência na substituição dos métodos tradicionais de encerramento de incisões (suturas e agrafos), por procedimentos cirúrgicos mais simples, rápidos e minimamente invasivos, como é o caso dos adesivos cirúrgicos. Estes possibilitam a aproximação das extremidades dos tecidos, ajudando na sua cicatrização. Para além disso, características como redução do trauma induzido nos tecidos vizinhos, resultado estético favorecido e possibilidade de serem biodegradáveis, tornam a utilização de adesivos cirúrgicos vantajosa. Atualmente, estão disponíveis comercialmente adesivos de origem natural e sintética, no entanto, estão associados a risco de transmissão de doenças, libertação de produtos tóxicos e fracas propriedades mecânicas, o que limita a sua aplicação. Assim, a solução passa pelo desenvolvimento de adesivos cirúrgicos foto-reticuláveis, uma vez que oferecem grandes vantagens, como controlo da temperatura de polimerização e alta taxa de cura que, consequentemente, leva a uma redução do tempo cirúrgico e um controlo superior sobre as propriedades finais do material.

Neste trabalho desenvolveram-se adesivos foto-reticuláveis a partir de poliésteres insaturados, sintetizados através de etilenoglicol ou 1,6-hexanodiol e ácido itacónico, a 170 °C e nas proporções 1:1 e 2:1, na presença ou ausência de solvente. Um fotoiniciador biocompatível, Irgacure<sup>®</sup> 2959, foi também usado obtendo-se matrizes flexíveis, resistentes e transparentes após 45, 90 e 150 segundos de exposição à irradiação UV.

Os filmes foram caracterizados quanto ao teor de gel, capacidade de absorção de água, degradação hidrolítica em solução de PBS, ângulos de contacto e biocompatibilidade.

As estruturas químicas dos poliésteres sintetizados e dos materiais reticulados, foram confirmadas utilizando técnicas de ATR-FTIR e <sup>1</sup>H RMN.

Os adesivos com tempo de reticulação de 45 s, apresentaram menores valores de teor de gel e, consequentemente, menor grau de reticulação. Contrariamente, para tempos de reticulação de 150 s, os resultados de teor de gel foram mais elevados e assim, maior o grau de reticulação. Desta forma, e como a matriz para os adesivos de 45 s era menos rígida e compacta, a percentagem da capacidade de absorção de água foi maior e, consequentemente, maior a degradação dos materiais.

Os resultados obtidos variaram também consoante o diol e a estequiometria da reação. Relativamente ao diol utilizado, para os adesivos com 1,6-hexanodiol, os valores de teor de gel foram menores devido ao aumento de ligações na cadeia principal, sendo mais difícil quebrar as ligações. Relativamente às reações em que o 1,6-hexanodiol e o etilenoglicol se encontravam

em excesso, os valores de teor de gel foram menores, quando comparados com os resultados para a estequiometria 1:1. Desta forma, os valores de teor de gel para a reação 1,6-hexanodiol (HDO)+ácido itacónico (AI) 2:1 foram retirados do estudo. Assim, os adesivos de etilenoglicol apresentaram maiores percentagens de capacidade de absorção de água, valores mais elevados de perda de massa e apresentaram caráter hidrofílico.

Resumidamente, o teor de gel, a capacidade de absorção de água e a degradação hidrolítica em solução de PBS evidenciaram que, quanto maior o tempo de exposição dos filmes à luz UV, maior o grau de reticulação e menor a degradação e a capacidade de absorção de água.

O estudo da biocompatibilidade não apresentou resultados muito satisfatórios, sendo que a percentagem de viabilidade celular se encontrou entre os 61% e os 67%. Foi possível observar que um aumento do tempo de reticulação levou a um aumento da viabilidade celular e, para além disso, e os adesivos que apresentaram caráter mais hidrofílico, foram também os que apresentaram maior percentagem de viabilidade celular.

Posto isto e, embora este trabalho apresente um contributo importante na área do desenvolvimento de adesivos para aplicação cirúrgica, é necessário a otimização do tempo de reticulação e nova realização de testes de caracterização.

**Palavras-chave:** adesivos cirúrgicos, foto-reticuláveis, poliésteres insaturados, degradação e biocompatibilidade.

## Abstract

In the last two decades, there has been a trend toward replacing traditional incision closure methods (sutures and staples) with surgical treatments that are simpler, easier, and less invasive, such as tissue adhesives. These allow for close proximity of tissue ends, which aids in the healing process. Furthermore, benefits such as reduced stress to nearby tissues, a more pleasing aesthetic appearance, and biodegradability make tissue adhesives more appealing.

Natural and synthetic adhesives are commercially available; however, there is a risk of disease transmission, toxic substance release, and poor mechanical properties, which limit their applicability. As a result, the solution pass for the creation of photo-crosslinkable surgical adhesives, which gives several advantages including polymerization temperature control and high cure rate, resulting in a shorter surgery time and greater control over final product attributes.

In this study, photo-crosslinkable adhesives were created using unsaturated polyesters synthesized with ethyleneglycol or 1,6-hexanediol and itaconic acid at 170°C and in proportions of 1:1 and 2:1, in the presence or absence of solvent. After 45, 90, and 150 seconds of UV irradiation, a biocompatible photoinitiator, Irgacure® 2959, was employed to produce flexible, durable, and transparent films.

The films were evaluated using ATR-FTIR, gel content, swelling, hydrolytic degradation in PBS, dynamic contact angles, and biocompatibility. The chemical structures of unsaturated polyesters and crosslinked compounds were confirmed using ATR-FTIR and <sup>1</sup>H NMR.

Adhesives with a crosslinking time of 45 s exhibited lower gel content values and, as a result, less crosslinking. The gel content results were higher for crosslinking periods of 150 s, and consequently a greater degree of crosslinking. As a result of the lower stiffness and compactness of the matrix for the 45 s adhesives, the percentage of water absorption capacity was higher, resulting in more material degradation.

The results differed depending on the diol and the reaction stoichiometry. Due to the increased number of bonds in the main chain, the gel content values for adhesives containing 1,6-hexanediol were lower than those for adhesives containing ethyleneglycol. The gel content values for reactions with excess of 1,6-hexanediol and ethylene glycol were lower when compared to the results for 1:1 stoichiometry. As a result, the 2:1 HDO+IA reaction gel content data from the study were deleted. Furthermore, ethylene glycol adhesives had higher percentages of water absorption capacity, higher mass loss values, and a hydrophilic nature.

In a nutshell, the gel content, water absorption capacity, and hydrolytic degradation in PBS solution revealed that the longer the films were exposed to UV light, the more crosslinking occurred resulting in lower water absorption capacity and degradation.

The biocompatibility investigation yielded unsatisfactory results, with cell viability ranging from 61% to 67%. It was discovered that increasing the crosslinking duration increased cell viability, and that adhesives with a more hydrophilic character also had the highest percentage of cell vitality.

Nonetheless, while this work makes a significant contribution to the development of surgical adhesives, it is vital to optimize the crosslinking period and conduct additional characterization experiments.

**Keywords:** surgical adhesives, photo-crosslinkables, unsaturated polyesters, biodegradability and biocompatibility.



## Índice

<b>1. Introdução .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 Foto-reticulação .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2 Adesivos cirúrgicos .....</b>	<b>5</b>
1.2.1 Tipos de adesivos cirúrgicos.....	6
1.2.1.1 Adesivos naturais ou biológicos .....	9
1.2.1.2 Adesivos sintéticos .....	10
<b>1.3 Poliésteres insaturados .....</b>	<b>13</b>
1.3.1 Ácido itacónico.....	16
1.3.2 Seleção do diol.....	20
<b>2. Materiais e Métodos .....</b>	<b>23</b>
<b>2.1 Materiais.....</b>	<b>23</b>
<b>2.2 Métodos de Síntese.....</b>	<b>24</b>
2.2.1 Síntese de Poliésteres insaturados .....	24
<b>2.3 Métodos de caracterização.....</b>	<b>27</b>
2.3.1 Espectroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada .....	27
2.3.2 Ressonância Magnética Nuclear.....	27
2.3.3 Determinação do teor de gel.....	28
2.3.4 Capacidade de absorção da água .....	28
2.3.5 Degradação hidrolítica em solução de PBS.....	29
2.3.6 Determinação de ângulos de contacto dinâmicos.....	30
2.3.7 Biocompatibilidade.....	30
<b>3. Resultados e Discussão .....</b>	<b>33</b>
<b>3.1 Síntese dos poliésteres insaturados .....</b>	<b>33</b>
<b>3.2 Análise por ATR-FTIR .....</b>	<b>35</b>
<b>3.3 Análise por RMN .....</b>	<b>41</b>
<b>3.4 Determinação do teor de gel .....</b>	<b>43</b>
<b>3.5 Avaliação da capacidade de absorção de água .....</b>	<b>44</b>
<b>3.6 Degradação hidrolítica em solução de PBS.....</b>	<b>48</b>

<b>3.7</b>	<b>Determinação de ângulos de contacto dinâmicos .....</b>	<b>50</b>
<b>3.8</b>	<b>Biocompatibilidade .....</b>	<b>53</b>
3.8.1	Estudo da viabilidade celular .....	53
<b>4.</b>	<b>Conclusões e Trabalhos futuros .....</b>	<b>57</b>
<b>4.1</b>	<b>Conclusões .....</b>	<b>57</b>
<b>4.2</b>	<b>Perspetivas futuras .....</b>	<b>58</b>
<b>5.</b>	<b>Referências .....</b>	<b>61</b>
<b>6.</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>69</b>
	Anexo A. Tipos de Irgacure .....	69
	Anexo B. Propriedades do Ácido itacónico.....	69
	Anexo C. Estruturas e propriedades químicas dos reagentes utilizados.....	69
	Anexo D. Esquema reacional para a síntese de poliésteres insaturados.....	70
	Anexo E. Resultados obtidos de valor ácido .....	71
	Anexo F. Análise de <sup>1</sup> H RMN .....	72

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.1</b> - Adesivos cirúrgicos de origem natural, disponíveis no mercado, respetivas funções, aplicações, vantagens e desvantagens.[2], [10], [16], [22] .....	7
<b>Tabela 1.2</b> - Adesivos cirúrgicos de origem sintética, disponíveis no mercado, respetivas funções, aplicações, vantagens e desvantagens[2], [10], [16], [22] .....	8
<b>Tabela 1.3</b> - Estrutura e fórmula química, peso molecular (M), temperatura de fusão (Tf), temperatura de ebulição (Teb) e massa volúmica ( $\rho$ ) do ácido itacónico. ....	16
<b>Tabela 1.4</b> - Exemplos de poliésteres insaturados produzidos a partir de ácido itacónico.....	18
<b>Tabela 1.5</b> - Estrutura e fórmula química, peso molecular (M), temperatura de fusão (Tf), temperatura de ebulição (Teb) e massa volúmica ( $\rho$ ) do 1,6-hexanodiol e do etilenoglicol, respetivamente. ....	21
<b>Tabela 2.1</b> - Materiais utilizados ao longo do projeto. ....	23
<b>Tabela 3.1</b> – Reações de policondensação realizadas e respetivas condições. ....	33
<b>Tabela 3.2</b> – Número de onda e estruturas químicas dos grupos funcionais presentes nos monómeros, PIs e adesivos.....	35
<b>Tabela 3.3</b> - Valores de massa de água presente no condensador no final da reação, nos adesivos e massa total do polímero. ....	45
<b>Tabela B. 1</b> - Propriedades físico-químicas do ácido itacónico. ....	69
<b>Tabela C. 1</b> - Estrutura e fórmula química, peso molecular (M), temperatura de fusão (Tf), temperatura de ebulição (Teb) e massa volúmica ( $\rho$ ) do Éter dietílico e do Irgacure 2959. ....	69
<b>Tabela E. 1</b> - Resultados obtidos na síntese de R1, R2, R3 e R4. ....	71



## Índice de Figuras

<b>Figura 1.1</b> - Estrutura química do PEG. ....	11
<b>Figura 1.2</b> - Estruturas químicas de exemplos de poliésteres alifáticos. ....	12
<b>Figura 1.3</b> - Estruturas químicas de exemplos de ácidos utilizados na síntese de PI. a) Ácidos saturados; b) Ácidos insaturados. ....	14
<b>Figura 1.4</b> - Estruturas químicas de exemplos de dióis utilizados na síntese de PI. ....	15
<b>Figura 2.1</b> - Esquema da montagem reacional. ....	24
<b>Figura 3.1</b> - Reações de policondensação entre os reagentes utilizados, e respectivos produtos. ....	34
<b>Figura 3.2</b> - Espectros de ATR-FTIR correspondentes aos poliésteres insaturados R1, R2, R3 e R4. ....	36
<b>Figura 3.3</b> - Espectros de ATR-FTIR correspondentes ao material reticulado de R1, durante 45, 90 e 150 s de irradiação UV. ....	37
<b>Figura 3.4</b> - Espectros de ATR-FTIR correspondentes ao material reticulado de R2, durante 45, 90 e 150 s de irradiação UV. ....	38
<b>Figura 3.5</b> - Espectros de ATR-FTIR correspondentes ao material reticulado de R3, durante 45, 90 e 150 s de irradiação UV. ....	39
<b>Figura 3.6</b> - Espectros de ATR-FTIR correspondentes ao material reticulado de R4, durante 45, 90 e 150 s de irradiação UV. ....	40
<b>Figura 3.7</b> - Espectros de <sup>1</sup> H RMN relativos aos poliésteres insaturados à base de etilenoglicol e ácido itacônico. ....	41
<b>Figura 3.8</b> - Espectros de <sup>1</sup> H RMN relativos aos poliésteres insaturados à base de 1,6-hexanodiol e ácido itacônico. ....	42
<b>Figura 3.9</b> - Valores percentuais de teor de gel dos adesivos desenvolvidos, para diferentes tempos de reticulação. ....	43
<b>Figura 3.10</b> - Valores da capacidade de absorção de água, em percentagem, para os adesivos R1, após 1 e 3 dias. ....	46
<b>Figura 3.11</b> - Valores da capacidade de absorção de água, em percentagem, para os adesivos R2, após 1 e 3 dias. ....	46
<b>Figura 3.12</b> - Valores da capacidade de absorção de água, em percentagem, para os adesivos R3, após 1 e 3 dias. ....	47
<b>Figura 3.13</b> - Perda de massa, em percentagem, dos adesivos R1, R2 e R3, por hidrólise em solução PBS, durante 6 semanas. ....	49

<b>Figura 3.14</b> - Ângulo de contacto dinâmico do adesivo R1. ....	51
<b>Figura 3.15</b> - Ângulo de contacto dinâmico do adesivo R2. ....	51
<b>Figura 3.16</b> - Ângulo de contacto dinâmico do adesivo R3. ....	52
<b>Figura 3.17</b> - Avaliação da viabilidade celular após 48 h de contacto com os adesivos R2-90s, R2-150s e R3-150s. K <sup>-</sup> , controlo negativo e K <sup>+</sup> , controlo positivo. ....	54
<b>Figura A. 1</b> - Estrutura química dos diferentes tipos de Irgacure: a) Ir2959; b) Ir184; c) Ir651. ....	69
<b>Figura D. 1</b> - Esquema da montagem experimental para a síntese dos poliésteres insaturados para reações a) sem refluxo de solvente; b) com refluxo de solvente. ....	70
<b>Figura E. 1</b> - Representação gráfica de VA em função do tempo, correspondentes à síntese de R1, R2, R3 e R4. ....	71
<b>Figura F. 1</b> – Espectro de <sup>1</sup> H RMN referente ao ácido itacónico. ....	72
<b>Figura F. 2</b> – Espectro de <sup>1</sup> H RMN referente ao etilenoglicol. ....	72
<b>Figura F. 3</b> - Espectro de <sup>1</sup> H RMN referente ao 1,6-hexanodiol. ....	73

## Nomenclatura

<b>AI</b>	Ácido itacónico
<b>ATR-FTIR</b>	<i>Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared</i>
<b>AOI</b>	Acrilato de 2-isocianatoetilo
<b>BD</b>	1,4-butanodiol
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Cloreto de cálcio anidro
<b>CDCl<sub>2</sub></b>	Clorofórmio
<b>DEG</b>	Dietilenoglicol
<b>ED</b>	Éter dietílico
<b>EG</b>	Etilenoglicol
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>GRF</b>	Gelatina reticulada com resorcinol-formaldeído/glutaraldeído
<b>HDO</b>	1,6-Hexanodiol
<b><sup>1</sup>H-RMN</b>	RMN do isótopo Hidrogénio 1
<b>HQ</b>	Hidroquinona
<b>IEMA</b>	Metacrilato de 2-isocianatoetilo
<b>KOH</b>	Hidróxido de potássio
<b>K<sup>+</sup></b>	Controlo positivo
<b>K<sup>-</sup></b>	Controlo negativo
<b>PBS</b>	Solução tampão fosfato
<b>PCL</b>	Poli(ε-caprolactona)
<b>PEG</b>	Polietilenoglicol
<b>PG</b>	Propilenoglicol
<b>PIs</b>	Poliésteres insaturados
<b>PLA</b>	Poli(ácido láctico)
<b>PLGA</b>	Poli(ácido láctico-co-glicólico)
<b>RMN</b>	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
<b>THF-D8</b>	Tetrahidrofurano deuterado
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>UBI</b>	Universidade da Beira Interior
<b>UV</b>	Ultravioleta

## Acrónimos

<b>Símbolo</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b>Unidades</b>
$g_{\text{amostra}}$	Peso de amostra do polímero	g
$M$	Peso molecular	$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$
$mL_{\text{branco}}$	Volume de branco	mL
$mL_{\text{KOH}}$	Volume de solução de KOH	mL
$VA$	Valor ácido	$\text{mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$
$W_f$	Peso seco final	g
$W_h$	Peso da membrana hidratada	g
$W_i$	Peso seco inicial	g
$W_s$	Peso da membrana seca	g
$W_{s,i}$	Peso seco inicial antes da imersão em PBS	g
$W_{s,t}$	Peso seco final após imersão em PBS	g
$\delta$	Desvio químico	ppm
$\rho$	Massa volúmica	$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$



## Objetivos e estrutura da Tese

De forma a melhorar a qualidade de vida das populações, o interesse do avanço médico tem vindo a aumentar, alcançando metodologias que proporcionam maior conforto, eficácia e rapidez, tanto para os utentes, como para os profissionais. Desta forma, é necessária uma procura por novos materiais que tendam a melhorar práticas cirúrgicas.

No que diz respeito a técnicas tradicionais de encerramento de incisões, estas baseiam-se essencialmente em suturas e agrafos. Apesar das suas amplas utilizações, há riscos de infeções, dano tecidual, dificuldade de manuseio, desconforto do paciente e mau resultado estético. Assim, nos últimos anos e de forma a melhorar os métodos convencionais, o interesse na produção de adesivos cirúrgicos tem vindo a crescer, permitindo controlar a perda de sangue e a cicatrização de tecidos de forma simples, rápida, não invasiva e eficaz [1].

Os adesivos cirúrgicos aproximam as extremidades do tecido e auxiliam o processo de cicatrização, e podem ser de origem natural, sintética ou biomimética, oferecendo uma alternativa para diferentes tipos de aplicação, consoante o material e as suas propriedades. Os adesivos à base de polímeros sintéticos apresentam particular interesse por parte dos investigadores devido à sua fácil manipulação das propriedades do material [2]. Na categoria referida, destacam-se os poliésteres insaturados e poliésteres alifáticos. Os primeiros são caracterizados pela capacidade de criarem matrizes poliméricas tridimensionais estáveis, devido à presença de ligações duplas de carbono e conseqüentemente, suscetíveis a reticulação. Os poliésteres alifáticos destacam-se devido às suas ligações éster e conseqüente biodegradabilidade, sendo atualmente o tipo de polímeros mais utilizados em aplicações clínicas. [3], [4].

Como referido, os poliésteres insaturados possuem a capacidade de reticularem *in situ* através da exposição a irradiação ultravioleta (UV), tornando-os bons candidatos a bioadesivos. Assim, os adesivos foto-reticuláveis por UV apresentam um maior interesse dado o seu processo rápido e não invasivo.

A principal motivação deste trabalho consiste no desenvolvimento de adesivos cirúrgicos através da síntese de poliésteres insaturados, capazes de serem foto-reticulados.

O presente trabalho encontra-se dividido em 4 capítulos principais. No **Capítulo 1**, é realizado um enquadramento teórico do tema, iniciando-se pela necessidade de um novo biomaterial substituto das técnicas convencionais de encerramento de incisões, através da importância da foto-reticulação na área biomédica. Desta forma, são abordados diversos conceitos relacionados com os adesivos cirúrgicos, bem como diferentes tipos de adesivos existentes atualmente no mercado. Neste seguimento, aborda-se o facto dos adesivos à base de

polímeros sintéticos serem os mais promissores, convergindo assim para a produção de poliésteres insaturados, através de um ácido e de um diol, bem como uma revisão bibliográfica dos principais trabalhos desenvolvidos consoante o ácido selecionado.

No **Capítulo 2**, são indicados todos os materiais utilizados ao longo do trabalho, apresentando uma descrição detalhada dos procedimentos experimentais adotados para a síntese dos poliésteres insaturados e respetiva foto-reticulação. São também abordados os princípios de funcionamento das diferentes caracterizações e procedimento dos materiais, nomeadamente análise ATR-FTIR, RMN, determinação do teor de gel, capacidade de absorção de água, degradação hidrolítica em solução de PBS, ângulos de contacto dinâmicos e biocompatibilidade.

No **Capítulo 3**, são apresentados todos os resultados das caracterizações, obtidos ao longo do processo de síntese dos diferentes adesivos, e respetiva discussão dos mesmos.

Por fim, no **Capítulo 4**, são reunidas as conclusões gerais sobre o trabalho desenvolvido, referindo as limitações e obstáculos encontrados no seu desenvolvimento. Face aos resultados obtidos, reuniram-se algumas sugestões para um futuro desenvolvimento do mesmo trabalho e estratégias que poderão potenciar as capacidades dos adesivos desenvolvidos.

## **1. Introdução**

Os biomateriais têm sido amplamente utilizados na área da saúde, desde 600 a.C [5]. São materiais naturais ou artificiais usados para reparar, restaurar ou substituir um tecido danificado [6]. É necessário que um biomaterial apresente requisitos mínimos, tais como, biocompatibilidade. Desta forma, a evolução dos mesmos tornou-os mais versáteis, aumentando a sua empregabilidade [5]. Os biomateriais são muito utilizados em selantes cirúrgicos, barreiras anti-adesão, dispositivos de fixação e promotores de cicatrização de feridas [7].

Todos os dias, milhares de pessoas, sofrem ferimentos e, conseqüentemente, recorrem a vários procedimentos para o seu tratamento. Estes ferimentos incluem não só feridas superficiais, mas também resultantes de feridas cirúrgicas ou traumas em órgãos, músculos e tendões. Durante as operações cirúrgicas, uma variedade de biomateriais tem sido utilizada, sendo as suturas, os que apresentam um maior consumo anual, superior a 1,3 mil milhões de dólares nos EUA [7].

Embora os métodos tradicionais de encerramento de tecidos como suturas, agafos e tiras adesivas sejam bastante utilizados, não satisfazem todas as necessidades do cirurgião [8]. A decisão da técnica de encerramento de incisões a utilizar, tem em conta diversos fatores como, a natureza e localização da ferida, idade do paciente, risco de infeção, velocidade de cura e custo [9].

O método mais comum de encerramento de incisões são as suturas e, embora estas sejam consideradas essenciais para vários tratamentos e procedimentos em cirurgia geral, estão associados a uma elevada taxa de infeção, tratamento extensivo, risco de transmissão de doenças transmitidas pelo sangue e reatividade do tecido [10]. Os agafos são uma alternativa às suturas, cuja principal vantagem é a sua velocidade de cicatrização e baixa taxa de infeção, no entanto, a sua remoção é mais dolorosa [11].

Por conseguinte, uma tendência geral de procedimentos cirúrgicos mais simples, rápidos e minimamente invasivos impulsionou o desenvolvimento de técnicas com o uso de interfaces adesivas e selantes de forma a restaurar o tecido, como é o caso dos adesivos cirúrgicos foto-reticuláveis [10].

## **Introdução**

### **1.1 Foto-reticulação**

A foto-reticulação de polímeros, destinados à preparação de adesivos teciduais, foi amplamente desenvolvida durante a segunda metade do século XX [12].

A produção de biomateriais por foto-reticulação apresenta diversas vantagens quando comparadas às técnicas de aquecimento. O uso de formulações livres de solvente, o controlo da temperatura de polimerização e elasticidade, a alta estabilidade de armazenamento e a baixa necessidade de energia, são algumas das vantagens desta técnica [13].

O processo de foto-reticulação depende da incidência de radiação de forma a iniciar as reações fotoquímicas em monómeros, macrómeros ou polímeros, resultando num novo sistema polimérico [13]. Assim, para este resultado ser possível, é necessária a utilização de fotoiniciadores. Os fotoiniciadores são uns dos compostos mais importantes na formulação devido à sua influência em diferentes parâmetros da reação. A natureza química do fotoiniciador determina a taxa de reação, a sensibilidade espectral (comprimento de onda de absorção), a resistência à luz e a estabilidade dos materiais em condições de armazenamento. De forma a obter polímeros reticulados, é necessário gerar radicais livres no sistema que, conseqüentemente, irão induzir a polimerização de monómeros e oligómeros em cadeia [12].

Neste processo, consideram-se três reações principais: iniciação, propagação e terminação. Como referido, os fotoiniciadores apresentam um papel essencial neste processo. Ao absorverem a radiação ultravioleta (UV), sofrem excitação e formam radicais livres, iniciando assim o mecanismo de polimerização. A eficiência da reação de polimerização depende dos monómeros, do fotoiniciador e do comprimento de onda do feixe. O comprimento de onda do feixe dever ser o mais próximo possível do comprimento de onda que maximiza a formação de radicais livres por parte do fotoiniciador [13].

A tecnologia de foto-reticulação por meio de luz UV, tem sido amplamente utilizada em aplicações biomédicas [14]. Nestas, a biocompatibilidade do fotoiniciador é um fator a considerar. Williams *et al.*, estudaram a biocompatibilidade de três diferentes fotoiniciadores frequentemente utilizados, 2-hidroxi-1-[4-(2-hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona (Irgacure<sup>®</sup> 2959), 1-hidroxiciclohexil-1-fenilcetona (Irgacure<sup>®</sup> 184) e 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (Irgacure<sup>®</sup> 651)), as diferentes estruturas químicas encontram-se no Anexo A. Neste estudo, dos três compostos testados, o Irgacure<sup>®</sup> 2959 apresentou os melhores resultados, com uma tolerância celular superior, mesmo utilizado em concentrações elevadas e em diferentes tipos de células [15]. Assim, o Irgacure<sup>®</sup> 2959 (Ir2959) foi o fotoiniciador selecionado para utilização no trabalho experimental desenvolvido neste projeto.

Como mencionado anteriormente, os polímeros foto-reticuláveis são amplamente utilizados em aplicações biomédicas, incluindo o desenvolvimento de sistemas de libertação de fármacos, ortopedia, restaurações dentárias, engenharia de tecidos e bioadesivos [13]. Isto deve-se ao facto de poderem ser produzidos *in situ*, ou seja, a exposição dos polímeros a uma fonte de irradiação UV resultará em matrizes poliméricas estáveis, num curto período de tempo. Esta estratégia permite modificar propriedades dos polímeros, como é o caso da biocompatibilidade [12].

Na secção seguinte, pretende-se destacar a produção e aplicação de adesivos foto-reticuláveis por meio de luz UV, o que está em concordância com o objetivo do presente trabalho. Desta forma, será realizada uma revisão dos produtos já existentes no mercado, assim como estudos em desenvolvimento na área dos biomateriais foto-reticulados.

### 1.2 Adesivos cirúrgicos

Nas últimas duas décadas, como alternativa aos métodos tradicionais utilizados no tratamento e regeneração de tecidos biológicos, surgiu um grande interesse nos adesivos cirúrgicos [16]. A sua rápida e fácil aplicação, a redução do trauma induzido nos tecidos vizinhos, o facto de ser menos doloroso e sem necessidade de remoção pós-cirurgia, resultado estético favorecido e conseqüentemente, melhor qualidade de vida do paciente, são características que tornam a utilização de adesivos cirúrgicos vantajosa [8], [17], [18].

Embora os esforços intensivos de pesquisa, os adesivos atualmente disponíveis no mercado ainda apresentam desvantagens, principalmente no que diz respeito à toxicidade, baixa adesividade, custo de produção e elevado tempo de reticulação [14]. Um adesivo ideal deve:

- Manter ambos os lados do tecido unidos até que tenha força mecânica suficiente, de forma a suportar devidamente a cicatrização da ferida;
- Ser seguro, esterilizável e não tóxico;
- Preparação fácil e rápida para uso clínico;
- Solidificar rapidamente na condição fisiológica para minimizar o sangramento e o tempo de cirurgia;
- Demonstrar forte ligação ao tecido e adesão;
- Manter as propriedades mecânicas necessárias;
- Ser degradável dentro de um razoável período de tempo, com nenhuma/mínima toxicidade;
- Ser acessível e económico para a sua inserção no mercado ser mais rápida;

## ***Introdução***

- Taxa de cura rápida;
- Ser biocompatível [2], [14].

As inúmeras vantagens do uso de adesivos comparativamente aos métodos tradicionais, levou a um aumento acentuado na pesquisa e desenvolvimento dos mesmos. Desta forma, em 2017, estimou-se que os adesivos constituíam uma quota de mercado de aproximadamente \$ 38 mil milhões [19].

Através do controlo de determinados parâmetros, como estrutura do polímero, tipo e quantidade de fotoiniciador, comprimento de onda do feixe e tempo de irradiação, um adesivo foto-reticulável proporciona diversos benefícios nas propriedades dos adesivos, tais como, comportamento hidrofílico, porosidade e resistência mecânica [20].

Os adesivos cirúrgicos foto-reticuláveis por UV oferecem grandes vantagens, como controlo da temperatura de polimerização e alta taxa de cura que, conseqüentemente, leva a uma redução do tempo cirúrgico, do trauma aplicado em tecidos enfraquecidos e traumatizados, e um controlo superior sobre as propriedades finais do material [18]. É também imprescindível que o adesivo reticule quase instantaneamente, de forma seletiva, uma vez que as salas de cirurgia são em áreas fortemente iluminadas [12].

### **1.2.1 Tipos de adesivos cirúrgicos**

Atualmente, são vários os tipos de adesivos disponíveis comercialmente, sendo estes classificados em 3 categorias: adesivos naturais ou biológicos (fibrina, colagénio, gelatina e polissacarídeos, como o quitosano e dextrano), sintéticos (cianoacrilatos, poliuretanos, PEG e poliésteres, como PCL, PLA e PLGA) e biomiméticos (adesivos de extrato de mexilhão marinho e adesivos inspirados em lagartixas). Como estes últimos ainda não se encontram comercialmente disponíveis, apenas os adesivos naturais e os sintéticos serão detalhados de seguida [21].

Os produtos comerciais atualmente disponíveis de cada tipo de adesivos encontram-se nas Tabela 1.1 e 1.2 [10].

Tabela 1.1 - Adesivos cirúrgicos de origem natural, disponíveis no mercado, respetivas funções, aplicações, vantagens e desvantagens.[2], [10], [16], [22]

Material base	Produto Comercial	Função	Vantagens	Desvantagens	
<b>Fibrina</b>	<i>Tisseel VH</i> (Baxter )	Funciona em conjunto com suturas; Apropriado para lesões abdominais.	Elevada biocompatibilidade, biodegradabilidade e potencial hemostático; Elevada velocidade de cura.	Risco de transmissão de doenças através do sangue; Fraca adesão; Preparação demorada.	
	<i>Evicel</i> (Ethicon Inc. (Johnson & Johnson Co)	Complemento para encerramento de colostomias.			
	<i>Vitagel</i> (Orthovita Inc)	Complemento à coagulação; Para procedimentos cirúrgicos, à exceção de neurocirurgia e cirurgia ocular.			
	<i>Cryoseal system</i> (ThermoGenesis Corp)	Aplicado em incisões do fígado.			
<b>Colagénio</b>	<i>Proceed</i> (Fusion Medical Technologies).	Prevenção e tratamento das “CSF leaks”.	Risco reduzido de transmissão de doenças; Baixo custo.	Biocompatibilidade moderada.	
	<i>CoStasis®</i> (Cohesion Technologies, Inc)	Favorece a agregação e adesão de plaquetas e ativa fatores de coagulação.			
<b>Gelatina</b>	<i>Gelfoam</i> (Pfizer)	ND	Possibilidade de modular a composição para evitar a formação de ligação de aldeídos em condições húmidas; Biocompatibilidade e biodegradabilidade.	Presença de aldeídos com alta taxa de inchaço.	
	<i>Surgifoam</i> (Johnson e Johnson)				
<b>Polissacarídeo</b>					
•	<b>Quitano</b>	<i>HemCon®</i> (Bandage Pro)	Barreira antibacteriana.	Propriedades antimicrobianas.	Possível dano no tecido após irradiação térmica. Presença de aldeídos.
	<b>Dextran</b>	<i>Actamax</i>	Prevenção de adesão; Selagem de tecido.	Boa adesão.	

\*CSF leaks - Selagem do líquido cefalorraquidiano

## Introdução

**Tabela 1.2** - Adesivos cirúrgicos de origem sintética, disponíveis no mercado, respetivas funções, aplicações, vantagens e desvantagens[2], [10], [16], [22]

<b>Material base</b>	<b>Produto comercial</b>	<b>Função</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Cianoacrilatos</b>	<i>Dermabond</i> (Ethicon, Inc Johnson & Johnson)	Tratamento de feridas superficiais.		
	<i>Histroacryl and Histroacryl Blue</i> (B. Braun Medical Inc.)	Tratamento de feridas cutâneas; Terapia endoscópica.	Elevada força de adesão; Rápida polimerização; Baixo custo.	Elevada toxicidade dos subprodutos de degradação; Polimerização exotérmica.
	<i>Indermil</i> (Covidien Inc.)	Tratamento de feridas cutâneas.		
<b>Poliétilenoglicol</b>	<i>FocalSeal-L</i> (Gynzyme Biosurgery)	Impedimento de vazamento de ar do pulmão.		
	<i>CoSeal</i> (Cohesion Technologies)	Estancamento de sangue nos limites da sutura.	Elevada biocompatibilidade; Adesão ao tecido.	Risco de inchaço; Relativamente caro.
	<i>Duraseal</i> (Covidien)	Encerramento de incisões em cirurgias vasculares.		
	<i>OcuSeal</i> (Hyperbranch Medical Technology)	Transplantes de córnea.		
<b>PLGA</b>	<i>TissuePatchTM</i>	Prevenção de vazamento de ar após cirurgia pulmonar ou prevenção de vazamento de fluido após cirurgia em tecidos moles.	Pronto para uso	ND
<b>Poliuretanos</b>	<i>TissuGlu V R</i> (Cohera Medical)	Tratamento de pele abdominal.	Boa molhabilidade.	Produtos de degradação pouco biocompatíveis.

ND- Não definido.



### **1.2.1.1 Adesivos naturais ou biológicos**

Regra geral, os adesivos cirúrgicos de base natural são mais biocompatíveis quando comparados com os adesivos sintéticos [8]. Os adesivos naturais são obtidos a partir de matérias-primas de base biológica, apresentam boa bioadesão e biocompatibilidade. Os adesivos biológicos mais utilizados têm por base a fibrina ou o colagénio.

Os adesivos de fibrina resultam de uma combinação entre diferentes componentes produzidos a partir de plasma humano, como o fibrinogénio e a trombina. Estes criam um coágulo com capacidade hemostática e selante, sendo desta forma, capaz de reproduzir os estágios finais da coagulação do sangue [8], [23].

As principais vantagens destes adesivos são a sua excelente biocompatibilidade, degradabilidade e baixa toxicidade [17]. Devido à reduzida elasticidade e resistência mecânica dos adesivos à base de fibrina, sobretudo em condições húmidas (por exemplo, na presença significativa de sangue) são muitas vezes combinados com suturas ou agrafos. No entanto, sendo os principais componentes dos adesivos de fibrina (trombina e fibrinogénio), obtidos através do sangue humano, se estes não forem devidamente rastreados, podem estar associados a riscos de transmissão de doenças, tais como, SIDA, vírus da Hepatite B, etc [17]. Apresentam resistência à tração e adesão relativamente fraca e requerem uma preparação trabalhosa imediatamente antes da aplicação [8]. Estes adesivos são aplicados em cirurgia cardiovascular, neurológica, torácica, plástica e reconstrutiva e dentária [17], [24].

No que diz respeito aos adesivos à base de colagénio, estes são relativamente novos e apresentam um potencial significativo. Resultam de uma combinação de colagénio e trombina bovina, e apresentam um baixo risco de transmissão de doenças [23]. Porém, é necessário um estudo de longo prazo, de maneira a explorar de forma adequada os benefícios destes adesivos na cirurgia. Estes adesivos são utilizados em reconstrução óssea, aplicações dentárias e ortopédicas [22].

A gelatina é uma proteína natural, derivada do colagénio de pele ou osso bovino ou suíno [2]. Dentro destes adesivos, os mais comuns são a gelatina reticulada com resorcinol-formaldeído/glutaraldeído (GRF/cola GRFG). Este adesivo contém dois componentes, mistura de gelatina e resorcinol, e utiliza formaldeído como agente de polimerização [19]. A gelatina apresenta baixo custo, é biocompatível e apresenta capacidade de formar filmes transparentes e flexíveis [2], [10]. Além disso, apresenta forças de adesão superiores quando comparada com os adesivos de fibrina [19]. Ainda assim, problemas de toxicidade de alguns componentes limitam a sua aplicação clínica, bem como a sua lenta degradação (num estudo de Bouten *et al.*

## **Introdução**

de 2014, verificou-se que após 188 dias ainda havia 80% de material [22]). Desta forma, e embora os desenvolvimentos significativos feitos na área de adesivos cirúrgicos nos últimos 20 anos, nenhum dos adesivos à base de gelatina atualmente disponíveis é amplamente utilizado [8].

Ono *et.al.*, desenvolveram um adesivo foto-reticulável à base de quitosano. Estes são biocompatíveis, biodegradáveis, mostram propriedades antibacterianas e apresentam bom potencial como bioadesivos [22]. No entanto, apesar do bom desempenho do material na vedação de vazamentos de ar durante a cirurgia pulmonar, testes *in vivo* mostraram que, 30 dias após o procedimento cirúrgico, o adesivo ainda se encontrava no local de implantação, envolvido por tecido fibroso espesso e células [3].

O dextrano é usado em bioadesivos principalmente quando combinado com PEG, ActaMaxVR. Esses adesivos não induzem uma inflamação ou resposta citotóxica, não apresentando risco de contaminação viral [22]. Apesar disso, este tipo de sistemas requer uma elevada quantidade de polímero para encerrar a incisão que, conseqüentemente, pode provocar uma má resposta corporal [22].

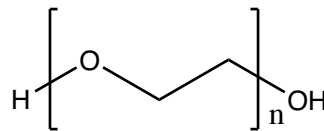
### **1.2.1.2 Adesivos sintéticos**

Devido a limitações de desempenho, condições de segurança e riscos associados aos adesivos de base natural, desenvolveram-se adesivos sintéticos. Estes baseiam-se em monómeros/pré-polímeros que sofrem polimerização para formar uma matriz adesiva. Devido à sua estrutura tridimensional e, conseqüentemente, às propriedades do material, tais como, a forte adesão, degradação, facilidade de uso com uma preparação simples, estes adesivos são bastante interessantes.

Os adesivos de cianoacrilatos são feitos de alquil  $\alpha$ -cianoacrilatos para aplicação de adesivo em tecido desde os anos 1980s [19]. Após a sua aplicação, a formulação líquida de monómero polimeriza-se instantaneamente, formando uma película fina de polímero flexível [25]. Estes adesivos são mais fortes do que os adesivos de fibrina, apresentam baixo custo e rápida cicatrização. No entanto, não são muito biodegradáveis [19], [23]. A rápida polimerização (devido à presença de água ou sangue) de monómeros de cianoacrilato está associada à dissipação de calor significativa no local de aplicação, resultando na formação de um filme duro e quebradiço [19]. Apesar dos seus inúmeros usos, são restritos a aplicações externas ou temporárias e degradam-se em meio aquoso para produzir formaldeído, o que pode provocar inflamação e apresentar também potencial carcinogénico. São várias as suas aplicações cirúrgicas, incluindo na otorrinolaringologia, oftalmologia e ginecologia [18], [26].

Também os poliuretanos, uma família de polímeros sintetizados com base na reação de policondensação entre isocianatos e polióis, têm sido bastante promissores [2], [18]. Este tipo de adesivos aderem covalentemente ao tecido através da formação de ligação de ureia entre grupos de isocianato disponíveis e os grupos amina das proteínas disponíveis nos tecidos vivos. Apresentam excelente estabilidade térmica à temperatura fisiológica, no entanto, o tempo de cura é prolongado, associado a uma degradação lenta, sendo alguns dos seus produtos de degradação tóxicos e carcinogênicos [2]. São utilizados em aplicações como cateteres, aplicações cardiovasculares e curativos [2], [18], [22].

Um outro tipo de adesivos de polímeros sintéticos são os adesivos de hidrogel à base de polietilenoglicol (PEG), Figura 1.1. O PEG é biocompatível, hidrofílico, não tóxico e aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA [19]. Embora ofereça vantagens como formação de gel, boa biodegradabilidade, adesão e biocompatibilidade, há algumas preocupações associadas. Um desses casos, é um aumento de 400% do volume original do adesivo, o que requer cuidado ao aplicar devido ao aumento de pressão nos tecidos circundantes. Consequentemente, há uma diminuição da resistência mecânica, dificultando assim uma boa adesão [2], [27]. Para além disso, a sua degradação apresenta uma durabilidade de aproximadamente 3 meses [23]. A principal aplicação deste adesivo é selar linhas de sutura e enxertos vasculares [2].



**Figura 1.1** - Estrutura química do PEG.

Nesta categoria de adesivos, existem ainda os poliésteres alifáticos com grupos foto-reticuláveis, que são considerados os mais promissores para a produção de adesivos cirúrgicos [14]. Estes são os polímeros sintéticos biodegradáveis mais usados na regeneração de tecidos e têm mostrado bons resultados de adesão e uma taxa de cura rápida a temperaturas fisiológicas [4]. Devido à sua ligação éster e capacidade de degradação, têm sido bastante explorados em aplicações cirúrgicas. Estes adesivos são usados para reduzir a incidência de vazamentos de fluidos ou ar, reparação de vasos e defeitos cardíacos [10].

Poliésteres alifáticos, como poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL), poli(ácido láctico) (PLA) e poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), Figura 1.2, têm sido amplamente utilizados em aplicações biomédicas, como é o caso dos bioadesivos [22]. Além da sua biodegradabilidade e biocompatibilidade, estes polímeros sintéticos, são dos poucos aprovados pela FDA para aplicações clínicas humanas, como suturas cirúrgicas e alguns dispositivos implantáveis [4].

## Introdução

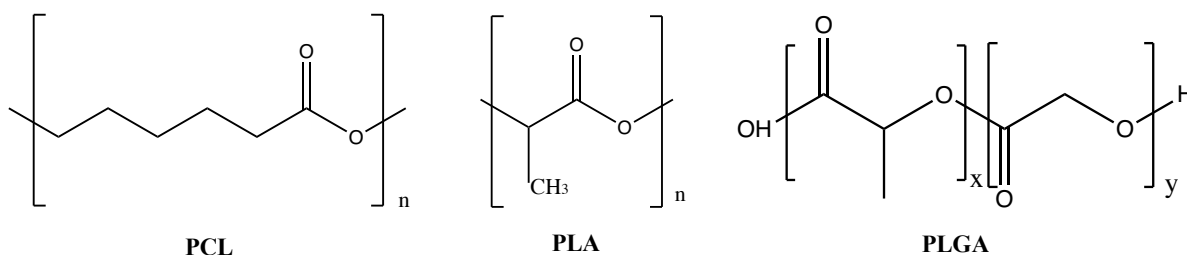


Figura 1.2 - Estruturas químicas de exemplos de poliésteres alifáticos.

O PLA é o poliéster mais usado na área biomédica [28]. É utilizado para a produção de pinças, sistemas de libertação controlada de fármacos e suturas biodegradáveis [29].

Já foi relatada a funcionalização do PLA com grupos foto-reticuláveis destinados à aplicação cirúrgica. Esses materiais apresentam bons resultados de adesão e uma taxa de cura rápida a temperatura fisiológica. Contudo, devido à baixa solubilidade em solventes atóxicos, alto peso molecular e transição vítrea do PLA comercial, a sua aplicação como adesivo cirúrgico ainda não foi amplamente estudada. Para além disso, a taxa de biodegradação é uma limitação aquando do uso como adesivo cirúrgico para aplicação interna [14], [27], [30]–[32].

Mais recentemente, Cernadas *et al.*, sintetizou copolímeros foto-reticuláveis compostos por poliésteres insaturados e oligómeros de ácido láctico funcionalizados, a fim de introduzir ligações duplas de carbono na estrutura polimérica, com metacrilato de 2-isocianatoetilo (IEMA). Adicionou-se um fotoiniciador biocompatível, Irgacure® 2959, resultando matrizes flexíveis, resistentes e uniformes após 2 minutos e 30 segundos de reticulação. Concluiu-se que os novos bioadesivos biodegradáveis sintetizados apresentaram propriedades promissoras para serem utilizados como adesivos cirúrgicos [29].

No que diz respeito à PCL, este é um poliéster alifático biodegradável linear semicristalino e biocompatível e tem sido usado em várias aplicações médicas como sistemas de distribuição de fármacos, suturas biodegradáveis e como material para regeneração de tecidos [29]. A biodegradabilidade da PCL está associada ao facto de na sua estrutura conter ligações éster suscetíveis a hidrólise, e os seus produtos de degradação serem metabolizados por estarem incluídos no ciclo do ácido tricarboxílico ou eliminados por secreção renal [12].

Ferreira *et al.*, desenvolveram bioadesivos biodegradáveis e foto-reticuláveis por UV à base de PCL. A PCL foi modificada com IEMA para formar um macrómero que, posteriormente, foi reticulado por irradiação UV, utilizando Irgacure® 2959 como fotoiniciador, formando uma rede reticulada em 60 segundos. Essa funcionalização química com um monómero à base de acrilato levou a uma diminuição dos tempos de cura, de forma a adaptá-

los às cirurgias. A PCL apresenta ainda uma taxa de degradação lenta e uma forma possível de a ajustar é misturando a PCL com outros materiais biodegradáveis [18].

Em 2021, Santos *et al.*, desenvolveram adesivos foto-reticuláveis por UV à base de oligómeros de ácido láctico e PCL. Ambos foram funcionalizados com acrilato de 2-isocianatoetilo (AOI). O AOI está disponível a um preço significativamente inferior ao IEMA, sendo uma boa opção para reduzir o custo final dos adesivos, tornando-os mais atraentes do ponto de vista do mercado. Por fim, os autores utilizaram o fotoiniciador Irgacure® 2959, irradiados sob luz UV por dois tempos distintos: 30 segundos e 2 minutos. Estes adesivos apresentaram também propriedades promissoras para serem usados como adesivos para aplicações na cicatrização de feridas [1].

Relativamente ao PLGA, este demonstrou ter uma boa adesão celular. Pode ser usado para aplicações de engenharia de tecidos [28]. Recentemente, foi comercializado um bioadesivos baseado em PLGA, o TissuePatch™. Este é usado na prevenção de vazamento de ar após cirurgia pulmonar ou prevenção de vazamento de fluido após cirurgia em tecidos moles. Segundo o estudo de Bouten *et al.*, a adesão ao tecido ocorre num minuto e devido à hidrólise das ligações amida e do PLGA, o adesivo degrada no corpo em 50 dias. A principal vantagem deste adesivo é que está pronto para ser usado de imediato, não sendo necessário uma preparação complicada e dispendiosa [22].

### 1.3 Poliésteres insaturados

Atualmente, os poliésteres insaturados (PIs) são cada vez mais comuns e amplamente produzidos industrialmente. Este facto deve-se sobretudo ao seu baixo custo, fácil processamento e versatilidade em propriedades e aplicações [33].

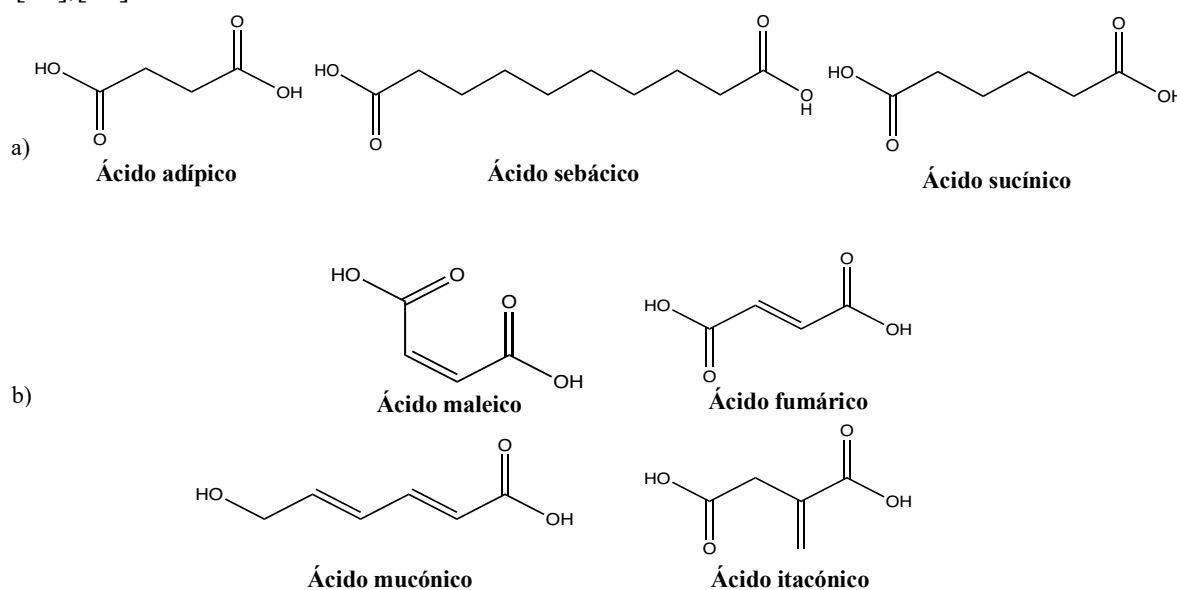
Os poliésteres insaturados são obtidos, essencialmente, por reações de policondensação a temperaturas elevadas entre álcoois com ácidos carboxílicos, como ácidos carboxílicos saturados e insaturados e/ou os seus anidridos [33]–[35]. A diferença entre estes está relacionada com o facto dos ácidos saturados serem responsáveis pela força e resistência termoquímica do poliéster, enquanto que os ácidos insaturados, devido às ligações duplas, permitem a reticulação de PIs na reação de cura [36].

Desta forma, os ácidos adípico, sebácico e succínico são exemplos de ácidos saturados, enquanto que os ácidos maleico, fumárico, mucónico, e itacónico são ácidos insaturados, Figura 1.3 [37]. Relativamente aos ácidos saturados mencionados, todos possuem propriedades semelhantes, sendo a maior diferença entre eles a quantidade de carbonos presentes na cadeia linear, influenciando desta forma as propriedades finais do PI sintetizado. Isto é, quanto maior

## Introdução

for o número de carbonos presentes na cadeia polimérica, maior será a flexibilidade do polímero após reticulação. No entanto, estes materiais com elevados pesos moleculares, podem provocar um aumento da viscosidade, dificultando o seu manuseamento [38].

De notar que, todos os ácidos mencionados anteriormente são de origem biológica, o que se torna cada vez mais relevante uma vez que os monómeros derivados do petróleo têm vindo a ser substituídos por monómeros derivados de matérias-primas renováveis, os chamados “*green monomers*”. Isto deve-se sobretudo ao facto das constantes oscilações nos preços do petróleo e rígidas regulamentações governamentais mundiais em relação às questões ambientais [35],[37].



**Figura 1.3** - Estruturas químicas de exemplos de ácidos utilizados na síntese de PI. a) Ácidos saturados; b) Ácidos insaturados.

O ácido itacónico (AI) é um dos ácidos mais utilizados para a síntese de poliésteres e também o que apresenta maior potencial químico de plataforma biológica de acordo com o Departamento de Energia dos EUA, devido à sua estrutura química única e por ser de origem natural [39], [40]. O AI é um monómero bioativo, isto é, pode exibir atividade biológica em áreas de utilização, como estar envolvido na regeneração dos tecidos [41], [42]. Assim, o ácido itacónico é utilizado para aumentar a bioatividade e biocompatibilidade quando usado na engenharia de tecido [43]. Este ácido vai ser detalhado na Secção 1.3.1.

Relativamente aos polióis, estes permitem a poliesterificação uma vez que apresentam grupos hidroxilos na sua estrutura. Um excesso molar de polióis na policondensação, pode levar a reações mais lentas e a poliésteres insaturados com reatividade reduzida [44]. Os dióis mais utilizados na síntese de PIs são o 1,4-butanodiol (BD), o dietilenoglicol (DEG), o etilenoglicol

(EG) e o propilenoglicol (PG), Figura 1.4. Estes apresentam uma boa biodegradação e biocompatibilidade [43].

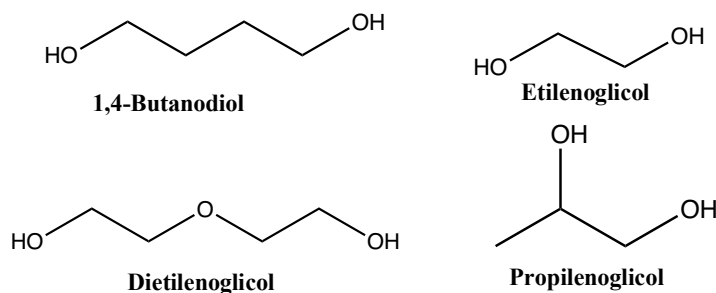


Figura 1.4 - Estruturas químicas de exemplos de dióis utilizados na síntese de PI.

A combinação dos monómeros utilizados, a proporção dos mesmos, o tipo de solvente (caso necessário) e as condições de reticulação, influenciam as propriedades físicas e químicas do poliéster resultante [34],[35].

O uso de poliésteres insaturados tem inúmeras vantagens, como o aumento de determinadas propriedades do copolímero, dentro delas a hidrofiliçidade, taxa de biodegradação, biocompatibilidade e bioadesão dos materiais sintetizados [29], [45]. No entanto, os PIs têm algumas desvantagens, tais como, a falta de resistência mecânica e falta de rigidez, bem como a elevada inflamabilidade [33].

Um desafio na preparação de poliésteres insaturados de alto peso molecular, é a ocorrência de saturação de *Ordelt*. Esta envolve a reação do grupo hidroxilo do diol com as ligações duplas  $\alpha,\beta$ -insaturadas do diácido insaturado, resultando em polímeros incontavelmente ramificados. Essa ramificação faz com que os polímeros possuam propriedades indesejáveis, como viscosidade aumentada ou solubilidade reduzida, sendo por isso, preferível evitar esta saturação. Na polimerização envolvendo diácidos insaturados ou derivados, a isomerização é outra ocorrência indesejável, ou seja, a insaturação é “deslocada” para a cadeia principal, sendo que a posição da insaturação afeta a sua reatividade. Este fenómeno já foi relatado para poliésteres insaturados à base de itaconato, fumarato e maleato [37].

Por fim, é importante salientar o facto das matrizes poliméricas resultantes da reticulação dos poliésteres insaturados possuírem ligações éster na sua composição, que podem ser quebradas através de reações de hidrólise. Devido a esta característica, os PIs podem ser aplicados em adesivos, engenharia de tecidos, entre outros [33], [45]. Isto deve-se ao facto de poderem ser considerados biodegradáveis e em alguns casos, biocompatíveis. Algumas formulações de PIs já foram aplicadas com êxito em sistemas de libertação de fármacos, *stents* e *scaffolds* [46].

## Introdução

### 1.3.1 Ácido itacónico

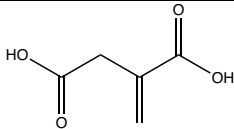
Neste trabalho, o ácido itacónico foi o ácido carboxílico selecionado para as diferentes reações de policondensação, pelo que será detalhado neste subcapítulo.

Como referido anteriormente, o AI tem sido um monómero promissor amplamente estudado no campo de poliésteres insaturados, uma vez que, nas últimas décadas, a indústria química tem feito esforços consideráveis para substituir a matéria-prima petroquímica por derivados de recursos renováveis [47]. Desta forma, o ácido itacónico é considerado “*green monomer*” [35], [48].

O ácido itacónico foi descoberto em 1837 como um produto da decomposição térmica do ácido cítrico [49]. No entanto, foi apenas em 1932 relatado como um produto biológico sintetizado por *Aspergillus itaconicus*, sendo a maior parte do IA produzida por processo biotecnológico utilizando o fungo *Aspergillus terreus* [50],[51]. Algumas das características do AI estão listadas na Tabela 1 do Anexo B, sendo que as principais propriedades do mesmo se encontram na Tabela 1.3 [52], [53].

O ácido aqui mencionado é considerado um ácido orgânico dicarboxílico insaturado, com um dos grupos carboxílicos conjugado a um grupo metileno. Essa diversidade dos seus grupos funcionais permite uma variedade de reações, como produção de anidrido, polimerização por adição com outros monómeros insaturados e por condensação com álcoois e aminas, produzindo poliésteres e poliamidas, respetivamente [50].

**Tabela 1.3** - Estrutura e fórmula química, peso molecular (M), temperatura de fusão (Tf), temperatura de ebulição (Teb) e massa volúmica ( $\rho$ ) do ácido itacónico.

Estrutura química	Fórmula química	M (g.mol <sup>-1</sup> )	Tf (°C)	Teb (°C)	$\rho$ (kg.m <sup>-3</sup> )
	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	130,1	165-168	268	1,63

Portanto, o interesse pelo ácido itacónico tem surgido essencialmente pela dupla funcionalidade de ácido carboxílico (-COOH) e pela ligação dupla  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturada, o que o torna um potencial candidato para as inúmeras modificações químicas [48],[49]. Desta forma, o AI pode atuar como padrões estruturais flexíveis para poliésteres com características ajustáveis. Além disso, a possibilidade de reticulação através da ligação C=C após a policondensação, leva ao desenvolvimento de materiais de alto potencial com propriedades satisfatórias para aplicação biomédica [49].



De realçar que, grande parte dos polímeros formados a partir de ácido itacónico apresentam biodegradabilidade [33]. Para além disso, a bioadesividade é uma característica importante nos ácidos carboxílicos, como é o caso do AI [51]. A bioadesividade é definida como o estado em que dois materiais, pelo menos um de origem natural, são mantidos juntos durante um longo período de tempo, através de forças interfaciais. Os polímeros que apresentam propriedades bioadesivas são geralmente materiais com um grande número de grupos que formam ligações de hidrogénio [51].

Os poliésteres de base itacónica são os mais adequados e recomendados em aplicações biomédicas e biotecnológicas [49]. O ácido itacónico tem diversas aplicações atraentes e, desde a década de 1990, que estas abrangem a área biomédica, odontológica e oftalmológica [50]. É utilizado na síntese de poliésteres, essencialmente para aplicações biomédicas, em medicina, em adesivos, elastómeros, polímeros com memória de forma, compósitos e revestimentos [49], [54], [55].

Existem vários estudos recentes sobre a polimerização de AI com diferentes dióis para obter poliésteres insaturados para várias aplicações. No entanto, cada reação tem condições particulares, como os diferentes polióis, quantidades estequiométricas, uso de catalisadores e inibidores, temperaturas e tempos de reação [48]. Desta forma, na Tabela 1.4 encontra-se uma revisão bibliográfica de alguns exemplos de sínteses de poliésteres a partir de ácido itacónico.

## Introdução

Tabela 1.4 - Exemplos de poliésteres insaturados produzidos a partir de ácido itacônico.

Reagentes	Estequiometria	Condições reacionais	Tempo de reação (h)	Aplicações	Referência
Ácido itacônico Etilenoglicol	1.2:1	T=140 ou 160°C	8		
Ácido itacônico 1,4- Butanodiol	1.2:1	Catalisador: Dilaurato de butil ditina	6	Adesivos Revestimentos Compósitos	[56]
Ácido itacônico 1,6- Hexanodiol	1.2:1		4		
Ácido itacônico 1,4- Butanodiol Glicerol	1.2:0.9:0.1	Inibidor: 4-metoxifenol	6		
Ácido itacônico Trimetilolpropano	1:1:0	T=120 a 150°C	10,5	Engenharia de tecidos, sistemas de liberação de fármacos e outras aplicações biomédicas	[57]
Ácido adípico	1:4:3		9,5		
Ácido itacônico Sorbitol Ácido Sucínico	1:10:9 1:2.5:1.5	Sem catalisadores e inibidores	8,5 7		
Ácido itacônico 1,3-Propanodiol		T=130 a 180°C			
Ácido itacônico 1,4-Butanodiol		Catalisador: Butóxido de titânio, Ácido metano- sulfônico, Acetato de Zinco ou sem catalisador		Revestimentos	[47]
Ácido itacônico 1,6-Hexanodiol	1:1.25		7 a 13		
Ácido itacônico Neopentilglicol		Inibidor: Hidroxitolueno butilado e 4-metoxifenol			
Ácido itacônico Glicerol					
Ácido itacônico Ácido isoftálico Neopentilglicol Anidrido maleico	1:1:2.4:0 0.75:1:2.4:0.25 0.5:1:2.4:0.5 0.25:1:2.4:0.75	Catalisador: Óxido de butilestanho	-	Revestimentos	[40]
		Inibidor: Hidroquinona			
Ácido itacônico Ácido sebácico 1,3-propanodiol	1:9:10.5	Catalisador: Tetra-n-butil titanato	4 a 6	Aplicações biomédicas (stents) e polímeros inteligentes	[58]
		Inibidor: <i>p</i> -hidroxianisol			
Ácido itacônico Ácido sucínico 1,4-Butanodiol	1:0:1.2 0.85:0.15:1.2 0.75:0.25:1.2 0.5:0.5:1.2	Catalisador: Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico	2 a 7	Revestimentos	[45]
		Inibidor: 1-metoxifenol			

Tabela 1.4 - Exemplos de poliésteres insaturados produzidos a partir de ácido itacônico (continuação).

Reagentes	Estequiometria	Condições reacionais	Tempo de reação (h)	Aplicações	Referência
<b>Ácido itacônico</b>		T=150°C			
Poli(etileno)glicol 600	1:1.02:0.45	Catalisador: Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico	22	Sistema de liberação de fármacos (microesferas bioerodíveis)	[59]
Ácido cetoglutarico	1:1.02:0	Inibidor: Hidroquinona			
<b>Ácido itacônico</b>		T=160 a 190°C			
Ácido fumárico	0.01:0.01:0.02	Catalisador: Tetraisopropóxido de titânio	3	Sistemas de liberação de fármacos	[43]
1,4-butanodiol					
<b>Ácido itacônico</b>		T=100 a 165°C			
Ácido sebáico	0.6:0.6:1.4:0:0.02	Catalisador: FASCAT	26	Revestimentos	[60]
1,4-butanodiol	0.6:0.6:0:1.4:0.02				
1,6-hexanodiol					
glicerol					
<b>Ácido itacônico</b>		T=180 a 190°C			
Ácido sebáico	0.22:0.22:0.34:0:0.2:0	Sem catalisador	6 a 11	Aplicações biomédicas	[35]
1,3-propanodiol	0.22:0.22:0:0.34:0:2:0	Inibidor: Hidroquinona			
Dietilenoglicol	0.22:0.22:0:0.34:0:0.2				
Isossorbido	0.22:0.22:0:0.44:0.1:0				
Propilenoglicol					
<b>Ácido itacônico</b>		T=160°C			
Ácido oxálico	0.3:0.7:1.04	Catalisador: Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico	-	Compósitos	[39]
Etilenoglicol	0.5:0.5:1.04	Inibidor: Hidroquinona			
	0.7:0.3:1.04				
	0.9:0.1:1.04				
	1.04:0:1.04				

Através da Tabela 1.4, é possível observar que são vários os estudos realizados com diferentes dióis para a síntese de itaconatos. Os dióis mais utilizados para produzir poliésteres insaturados a partir de ácido itacônico são o 1,4-butanodiol, o 1,6-hexanodiol e o glicerol. Por vezes, o ácido itacônico é ainda combinado com outros ácidos, tais como, ácido adípico, succínico, sebáico e fumárico, de forma a introduzir funcionalidade extra, melhor resistência química e módulo de flexão [40], [45]. Por exemplo, o ácido itacônico e o fumárico apresentam

## **Introdução**

diferente posição das ligações duplas na cadeia, proporcionando diferenças em termos de reatividade e, dessa forma, apresenta um papel importante nas propriedades finais dos PIs [35].

A temperatura das reações está compreendida entre 120 e 190°C, consoante os dióis utilizados. Os catalisadores são apenas utilizados para aumentar a velocidade da reação.

Dai *et.al.*, sintetizaram poliésteres por policondensação de ácido itacónico com diferentes dióis, etilenoglicol, 1,4-butanodiol, 1,6-hexanodiol e glicerol, uma vez que estes dióis apresentaram boas propriedades, como flexibilidade, adesão e resistência a solventes. [56].

Em 2017, Schoon *et al.*, observaram que devido a ligações insaturadas do poliéster, provenientes do ácido itacónico, podem ocorrer reações secundárias, como polimerização radicalar e reticulação espontânea. Para além disso, é possível que ocorra a formação de uma ramificação do polímero através da reação Ordelt, como referido e explicado na Secção 1.3 [47].

Recentemente, Bamane *et al.*, concluíram que, ao aumentar a quantidade de ácido itacónico na produção de poliésteres insaturados, provocaram uma diminuição da temperatura de fusão e cristalização e, conseqüentemente, um aumento da viscosidade do polímero. Este fenómeno deve-se ao aumento do número de ligações duplas que, ao serem suscetíveis a reagir, aumentam a viscosidade do polímero [40].

Guo *et al.*, utilizaram ácido sebácico, ácido itacónico, 1,3-propanodiol e dietilenoglicol para a produção de poliésteres insaturados. O último diol referido foi selecionado de forma a ajustar a flexibilidade do poliéster [58].

Farmer *et al.*, relataram que a substituição de dióis por polióis produziu polímeros complexos com estruturas altamente ramificadas [45].

Um dos primeiros estudos da síntese de poliésteres insaturados foi realizada por Singh, e baseou-se em ácido itacónico, fumárico e PEG 600 e, verificou-se que, quanto menor a % de reticulação, mais rápida a libertação em microesferas. No entanto, o tempo de degradação mostrou-se superior a 8 semanas [40].

Fonseca *et.al.*, preparam poliésteres insaturados que apresentaram boa estabilidade térmica, alto teor de gel e natureza altamente hidrofóbica. No entanto, a sua degradabilidade não foi a esperada. Ainda assim, apresentam características interessantes na área biomédica [35].

### **1.3.2 Seleção do diol**

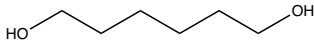
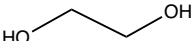
No presente trabalho, o diol a utilizar na síntese de PIs, para posterior uso em adesivos foto-reticuláveis, foi selecionado tendo em consideração diversos fatores.

Após uma análise da tabela apresentada anteriormente, Tabela 1.4, foi possível concluir que o 1,6-hexanodiol é um dos dióis mais utilizados na síntese de poliésteres insaturados quando se utiliza ácido itacónico. Desta forma, e dado às suas diversas aplicações, este diol mostrou ser um ótimo candidato a utilizar no decorrer deste projeto. Para além deste, e de forma a ser possível a comparação de dois dióis diferentes, teve-se em conta a estrutura química do 1,6-hexanodiol, selecionando-se assim o etilenoglicol. A principal diferença entre estes dois dióis prende-se com o facto do etilenoglicol apresentar apenas dois carbonos na cadeia principal, enquanto o 1,6-hexanodiol apresenta seis carbonos.

Para além disso, teve-se em conta o facto de terem sido realizadas duas dissertações de Mestrado acerca do desenvolvimento de adesivos à base de 1,4-butanodiol e ácido itacónico, cujo diol é também semelhante aos dois mencionados anteriormente, no entanto, apresenta quatro carbonos na cadeia principal.

Assim, selecionou-se o etilenoglicol (EG) e o 1,6-hexanodiol (HDO) para o desenvolvimento deste projeto, cujas estruturas químicas são semelhantes, sendo a principal diferença o número de carbonos existentes na cadeia principal, provocando uma diminuição ou um aumento de flexibilidade, respetivamente. Para além disso, não só o ácido itacónico, bem como o EG e o HDO, são produzidos a partir de recursos bio-renováveis [56]. As principais propriedades destes dois dióis encontram-se na Tabela 1.5.

**Tabela 1.5** - Estrutura e fórmula química, peso molecular (M), temperatura de fusão (Tf), temperatura de ebulição (Teb) e massa volúmica ( $\rho$ ) do 1,6-hexanodiol e do etilenoglicol, respetivamente.

Estrutura química	Fórmula química	M (g.mol <sup>-1</sup> )	Tf (°C)	Teb (°C)	$\rho$ (kg.m <sup>-3</sup> )
	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	118,17	45	250	0,96
	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	62,07	-13	197,3	1,1135

Assim, o trabalho desenvolvido tem como objetivo a formação de adesivos foto-reticuláveis sob radiação UV para aplicações biomédicas, através da síntese de poliésteres insaturados por policondensação, utilizando como monómeros ácido itacónico e etilenoglicol ou 1,6-hexanodiol.



## 2. Materiais e Métodos

No Capítulo em questão, serão detalhados os diferentes procedimentos experimentais adotados neste projeto, assim como as diferentes técnicas de caracterização, para posterior compreensão dos resultados obtidos para cada material preparado no Capítulo 3.

### 2.1 Materiais

Na Tabela 2.1 encontram-se apresentados os diversos materiais utilizados ao longo do trabalho, desde a síntese dos poliésteres, à caracterização dos mesmos. Todos os reagentes e solventes apresentados na tabela foram obtidos comercialmente e usados sem purificação adicional.

Tabela 2.1 - Materiais utilizados ao longo do projeto.

	Função	Nome	Abreviatura	Peso molecular (g.mol <sup>-1</sup> )	Pureza (%)	Fornecedor
<b>Síntese de poliésteres</b>	Diácido	Ácido itacônico	IA	130,10	99,0	<i>Sigma-Aldrich</i>
	Dióis	1,6-hexanodiol	HDO	118,17	97,0	<i>Alfa Aesar</i>
		Etilenoglicol	EG	62,07	99,5	<i>Panreac Applichem ITW Reagents</i>
	Inibidor	Hidroquinona	HQ	110,11	99,0	<i>Acros Organics</i>
	Solvente	Éter dietílico	ED	74,12	99,7	<i>Panreac Applichem ITW Reagents</i>
<b>Determinação do valor ácido</b>	Base	Hidróxido de potássio	KOH	56,10	85,0	<i>Sigma-Aldrich</i>
	Solvente	Etanol	EtOH	46,06	96,0	<i>Sigma-Aldrich</i>
	Indicador ácido-base	Fenolftaleína	-	318,32	-	<i>Sigma-Aldrich</i>
<b>Reticulação fotoquímica</b>	Fotoiniciador	Irgacure <sup>®</sup> 2959	Ir2959	224,30	-	BASF
<b>Caracterização</b>	Solvente	Tetrahidrofurano deuterado	THF-D8	80,16	99,5	<i>Euriso-top</i>
		Clorofórmio	CDCl <sub>3</sub>	119,38	99,0	<i>MERCH</i>
<b>Outro</b>	Absorção de humidade	Cloreto de cálcio anidro	CaCl <sub>2</sub>	110,99	100,0	<i>ACROS Organics</i>

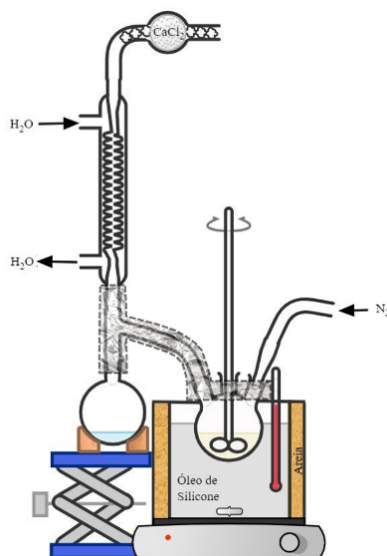
## ***Materiais e Métodos***

No Anexo C estão apresentadas as propriedades físico-químicas do éter dietílico e do Ir2959, uma vez que já foram apresentadas as do ácido itacônico, 1,6-hexanodiol e etilenoglicol.

### **2.2 Métodos de Síntese**

#### **2.2.1 Síntese de Poliésteres insaturados**

Inicialmente foram sintetizados os poliésteres insaturados (PIs), tendo por base o esquema reacional apresentado na Figura 2.1 e Anexo D [61].



**Figura 2.1** - Esquema da montagem reacional.

Os PIs foram preparados por policondensação, introduzindo os reagentes, um diol, um diácido e hidroquinona (um inibidor a 0,02% (m/m) da massa total de reagentes) num reator de quatro tubuladuras, com uma capacidade máxima de 100 mL. As quantidades dos reagentes foram calculadas de acordo com as massas molares destes e estequiometria da reação.

Numa das tubuladuras laterais introduziu-se uma corrente contínua de azoto, de caudal constante, de forma a assegurar um ambiente inerte, na segunda tubuladura lateral colocou-se um condensador de vidro. A terceira tubuladura foi fechada, e aberta apenas quando necessária a remoção de amostras. Já na tubuladura central, foi colocado um agitador mecânico de forma a homogeneizar a mistura. O reator foi mergulhado num banho de óleo de silicone com agitação magnética. A temperatura foi controlada através de um termopar, mantendo-se constante ao longo de toda a reação.

Para a síntese dos poliésteres insaturados, as experiências realizadas tiveram em conta as seguintes variáveis:



- Dióis (EG ou HDO);
- Estequiometria (1:1 ou 2:1);
- Temperatura (160 ou 170°C);
- Com ou sem solvente.

As reações realizadas, bem como a respetiva seleção das mesmas para o desenvolvimento deste trabalho, encontram-se discutidas em detalhe no Capítulo 3.1.

O final de cada reação foi determinado pelo monitoramento do valor ácido (VA) que, consequentemente, determinou o tempo de reação.

Aquando do término da reação, algumas reações necessitaram de solvente. Para as reações que não necessitaram de solvente, o fotoiniciador Ir2959 foi adicionado ao pré-polímero, sob agitação, até se encontrar totalmente solubilizado. A percentagem de fotoiniciador utilizada foi de 4 % em relação ao número de moles de ligações duplas existentes em cada molécula modificada.

Para as reações que requereram a presença de solvente, o esquema reacional sofreu algumas alterações, cujas fotos estão incluídas no Anexo D. Nestes casos, o banho de óleo de silicone foi colocado a 60 °C, atendendo à temperatura de ebulição do éter dietílico, e mantido constante até ao fim da reação. Na tubuladura lateral foi colocado um condensador, para que a reação ocorresse em refluxo de solvente, uma vez que o éter dietílico é bastante volátil. No topo do condensador, colocou-se uma torre de secagem, com cloreto de cálcio anidro, de forma a evitar a entrada de humidade no sistema. A outra tubuladura central permaneceu fechada durante toda a reação, de modo a não ocorrerem perdas de solvente por evaporação. De seguida, adicionou-se o fotoiniciador e depois da sua dissolução total (aproximadamente 30 minutos), adicionou-se o volume necessário de éter dietílico, 25 ou 50 mL, consoante a reação. O solvente foi adicionado de forma rápida e cuidadosa para evitar a evaporação do mesmo.

No final de cada reação, o produto final foi transferido para um frasco, devidamente identificado e envolvido em papel de alumínio, para evitar a reticulação.

### **2.2.1.1 Determinação do valor ácido**

Como referido anteriormente, para determinar o fim da reação, foi necessário determinar o valor ácido da mistura. O cálculo do mesmo, segue o padrão ASTM 109-01 (2006) e segue o procedimento apresentado de seguida. Desta forma, foi necessário preparar primeiramente uma solução 1 N de hidróxido de potássio (KOH) e uma solução do indicador fenolftaleína. No que diz respeito à solução de KOH, foi dissolvido num balão volumétrico de 250 mL, 1,4 g de KOH, em etanol. Para a solução do indicador, foi dissolvido num balão volumétrico de 25 mL, 0,25 g de fenolftaleína.

## ***Materiais e Métodos***

Num Erlenmeyer de 100 mL, introduziu-se 0,8 a 1 g de amostra de polímero ( $m_{amostra}$ ), 50 mL de etanol e 1 mL da solução de fenolftaleína. A mistura foi agitada até solubilização completa.

De forma a dar início à titulação, colocou-se a solução de KOH numa bureta e registou-se o volume inicial de solução de KOH. Esta foi adicionada gota-a-gota à mistura anterior, até se verificar uma mudança de cor do indicador, de transparente para rosa, registando-se o volume final de solução de KOH. Assim, determinou-se o volume de solução de KOH utilizado ( $mL_{KOH}$ ). Anteriormente, efetuou-se a preparação de um branco ( $mL_{branco}$ ), ou seja, verificou-se o volume de solução de KOH utilizado para uma mistura com 50 mL de etanol e 1 mL de fenolftaleína, sem amostra.

Por fim, determinou-se o VA da mistura através da Equação 2.1.

$$VA = \frac{mL_{KOH} - mL_{branco}}{g_{amostra}} \times 0,1 \times 56,1 \text{ (Equação 2.1)}$$

A reação terminou quando o valor ácido da mistura se encontrou entre os 25 e 50 mg KOH/g. O valor ácido da mistura foi determinado aproximadamente de 2h em 2h, no caso do volume da solução de KOH utilizado ser superior a 20 mL, o que indica que o VA será superior a 150 mg KOH/g. Caso o volume da solução de KOH utilizado seja inferior a 20 mL, a determinação do VA é feita consoante as seguintes condições,

- $60 < VA < 70$ : 1h em 1h;
- $50 < VA < 60$ : 30 min em 30 min;
- $VA < 50$ : até atingir um valor entre 25 e 50 mg KOH/g.

### **2.2.1.2 Reticulação fotoquímica**

Obtidos os poliésteres, procedeu-se à reticulação fotoquímica dos mesmos. Para dar início a este processo, adicionou-se a cada pré-polímero, 4 % do fotoiniciador Irgacure® 2959 (Ir 2959). A percentagem de fotoiniciador utilizada diz respeito ao número teórico de moles de ligações duplas de carbono existentes.

A mistura final foi envolvida em papel de alumínio de forma a evitar reticulação, e foi agitada sob aquecimento (60°C) até solubilização completa de Ir2959. De seguida, a mesma foi colocada sobre placas de vidro (limpas previamente com álcool ou acetona, secas e marcadas com as medidas pretendidas) e, com o auxílio de um espalhador cilíndrico de aço inoxidável, esta foi espalhada de forma a obter filmes, com 1 mm de espessura [31]. Com recurso a uma lâmpada de luz ultravioleta (UV), modelo UVGL-48, Multiband UV-254/365 nm, da Mineral Light® Lamp, procedeu-se à irradiação UV.

Desta forma, foram testados para uma percentagem de 4 % de fotoiniciador tempos de irradiação UV distintos, com o intuito de determinar o tempo de foto-reticulação ótimo.

Assim, o processo de caracterização concentrou-se apenas nos filmes com tempos de 45, 90 e 150 segundos de irradiação UV.

Uma vez concluída a irradiação UV, filmes transparentes, uniformes e flexíveis foram obtidos e posteriormente caracterizados.

### 2.3 Métodos de caracterização

#### 2.3.1 Espectroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada

A análise por espectroscopia de infravermelho com reflexão atenuada (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy-ATR-FTIR*) é uma ferramenta eficaz, rápida e barata. Esta permite identificar os grupos funcionais e ligações químicas presentes nas diferentes amostras, sejam elas sólidas, líquidas, gasosas ou em solução [62].

Nesta técnica, a amostra está em contacto com um cristal, cuja radiação infravermelha viaja através do mesmo e interage com a superfície da amostra. Desta forma, uma parte da luz infravermelha é absorvida e a restante é transmitida, o que se traduz num espectro. Assim, cada grupo funcional absorve energia num número de onda característico, obtendo-se o espectro da amostra.

De modo a identificar a composição química das diversas amostras, recorreu-se ao espectrofotómetro *FT-NIR/MIR Spectrometer*, da Perkin Elmer. Os espectros foram registados com 64 scans e com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ .

#### 2.3.2 Ressonância Magnética Nuclear

À semelhança da técnica ATR-FTIR, a ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica bastante utilizada para a identificação de estruturas químicas que constituem materiais sólidos ou soluções. O princípio de funcionamento desta análise baseia-se na incidência de radiação eletromagnética de radiofrequência sobre a amostra, na qual a energia é absorvida e emitida novamente através dos núcleos dos átomos que constituem a amostra. Essa energia é quantificada e representada num espectro característico de RMN [63].

Esta técnica é complementar à análise de ATR-FTIR, uma vez que permite confirmar a típica estrutura dos poliésteres sintetizados, ou seja, confirmar se realmente o procedimento experimental foi eficaz. Para além disso, ao contrário do que se sucede com a técnica referida anteriormente, o RMN permite caracterizar quantitativamente as amostras.

## ***Materiais e Métodos***

De forma a selecionar o melhor solvente para a relação desta técnica, testou-se para cada uma das amostras, tetrahidrofurano (THF) e clorofórmio (CDCl<sub>3</sub>). Dissolveu-se uma amostra de 2 mg de cada material, em 300 µL de tetrahidrofurano-deuterado (THF-D<sub>8</sub>) e introduziu-se a mesma num tubo de RMN de paredes grossas [13], [20]. Tetrametilsilano (TMS) foi usado como referência interna. De seguida, as amostras a analisar foram enviadas para o Laboratório de RMN do Centro de Química de Coimbra, e analisadas num espectrómetro de 9.4 Tesla, com uma sonda TXI de 5 mm.

### **2.3.3 Determinação do teor de gel**

A fim de se obter uma análise qualitativa do processo de reticulação, foi necessário determinar o teor de gel dos materiais através da extração com solvente. Foram preparadas amostras de adesivos de cada uma das quatro reações, com dimensões 0,1 × 4,5 × 1 cm. Cada filme foi dividido em três amostras sendo estas devidamente pesadas e colocados numa estufa de vácuo até peso constante. Seguidamente, as amostras foram pesadas (*W<sub>i</sub>*) e imersas em 5 mL de éter dietílico durante 24 h, em *vials* selados (sob agitação, à temperatura ambiente) [29]. O solvente selecionado, éter dietílico, é capaz de dissolver o polímero líquido, pelo que, qualquer líquido residual presente nas membranas é dissolvido neste. Posteriormente, as amostras foram removidas, secas numa estufa a vácuo até peso constante e novamente pesadas (*W<sub>f</sub>*). O conteúdo do gel, em %, foi determinado através da Equação 2.2.

$$\% \text{ gel content} = \frac{W_f}{W_i} \times 100 \text{ (Equação 2.2)}$$

### **2.3.4 Capacidade de absorção da água**

A capacidade de absorção de água diz respeito ao aumento de massa dos adesivos consequente da absorção de humidade. Assim, esta propriedade permite avaliar o comportamento hidrofóbico e hidrofílico dos adesivos em ambientes húmidos, tal como o organismo humano.

Para determinar a capacidade de absorção de água dos adesivos, foram preparados filmes das três reações, cada filme foi dividido em três amostras, para os tempos de reticulação 45 s, 90 s e 150 s, para diferentes tempos de incubação pré-determinados (24 h, 72 h, 1, 2, 3, 4 e 6 semanas). Estes foram devidamente pesadas e colocados numa estufa de vácuo até peso constante (*W<sub>s</sub>*).

De seguida, as amostras foram colocadas num exsiccador, contendo uma solução saturada de sulfato de cobre pentahidratado, com uma humidade relativa de 95 %, à temperatura ambiente, realizada previamente e medida com um medidor de humidade. Desta forma, e de

forma a obter o peso hidratado ( $W_h$ ) dos filmes, estas foram pesadas após 24 h, 72 h e 1, 2, 3, 4 e 6 semanas.

Assim, a capacidade de absorção de água é expressa em percentagem e pode ser calculada através da Equação 2.3.

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

Onde,  $W_h$  corresponde ao peso das membranas hidratadas e  $W_s$  ao seu peso seco.

### 2.3.5 Degradação hidrolítica em solução de PBS

De maneira a garantir a estabilidade dos adesivos, até estes deixarem de ser necessários, é pertinente estudar o processo da degradação dos mesmos, através da variação de massa ao longo de um período de tempo estipulado.

Prepararam-se os filmes das três reações e para os diferentes tempos de reticulação (45 s, 90 s e 150 s), cada um dividido em 3 amostras de dimensões semelhantes, para cada tempo de incubação pré-determinado (24 h, 72 h, 1, 2, 3, 4 e 6 semanas). Estes foram devidamente pesados até o valor de peso seco inicial ( $W_{s,i}$ ) ser constante. Em cada frasco que continha cada amostra, colocou-se 5 mL de uma solução salina de tampão fosfato (PBS, 0,01 M, pH 7,4), que permite simular a concentração salina do plasma sanguíneo. De seguida, estes foram colocadas numa estufa a 37°C, temperatura fisiológica do corpo humano, dando-se início ao estudo da biodegradação. Ao fim de cada tempo pré-determinado, as amostras foram retiradas da estufa, os filmes foram retirados do PBS de forma a seguirem para a estufa de vácuo. As amostras foram novamente pesadas até o peso seco final das amostras ser constante,  $W_{s,t}$ .

Assim, o grau de degradação foi determinado através da percentagem de perda de massa de cada amostra, ao fim de um determinado período de tempo, conforme representado na Equação 2.4.

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{W_{s,i} - W_{s,t}}{W_{s,i}} \times 100 \text{ (Equação 2.4)}$$

Onde  $W_{s,i}$  e  $W_{s,t}$  são os pesos médios das amostras antes da imersão em PBS e após a imersão no tempo t, respetivamente.

## ***Materiais e Métodos***

### **2.3.6 Determinação de ângulos de contacto dinâmicos**

De forma a avaliar a capacidade de molhabilidade dos materiais reticulados, recorreu-se à determinação dos ângulos de contacto dinâmicos, através do equipamento *Dataphysics*, OCA 20, a temperatura ambiente.

O adesivo foi colocado na plataforma do equipamento, com o cuidado de tornar a superfície do mesmo, o mais uniforme possível, para que os ângulos fossem medidos com exatidão. Seguidamente, uma gota de água destilada (10 µL) foi dispersa automaticamente na superfície da amostra, até estabilizar ou ser completamente absorvida pelo material. O seu progresso ao longo do tempo (120 s) foi registado por vídeo, permitindo ao software do equipamento calcular automaticamente o ângulo de contacto formado entre a gota de água e o adesivo, para cada tempo (*frame*) do vídeo desde o instante em que a gota cai.

Uma vez que este método não danifica permanentemente as amostras, foi possível realizar no mesmo adesivo, 3 medições em diferentes zonas do adesivo, de modo a determinar um ângulo de contacto dinâmico médio e o seu desvio padrão [13].

Assim, foi possível verificar quais os adesivos que apresentavam maior hidrofiliabilidade.

### **2.3.7 Biocompatibilidade**

Como já referido, a biocompatibilidade é definida pela capacidade de um material (natural ou artificial) e os seus produtos de degradação não provocarem respostas adversas que danifiquem os tecidos e/ou os órgãos envolventes [15].

De forma a avaliar o potencial dos diversos adesivos desenvolvidos, para o fim pretendido, foi realizado um teste de biocompatibilidade. O teste realizado foi o da viabilidade celular, de forma a avaliar a citotoxicidade dos materiais, expondo os adesivos a culturas celulares de fibroblastos humanos. O teste foi realizado na Universidade da Beira Interior (UBI, Covilhã), segundo protocolos experimentais previamente estabelecidos por esta instituição.

#### **2.3.7.1 Estudo da viabilidade celular na presença dos adesivos**

De forma a avaliar a adesão e proliferação de células de fibroblastos humanos aquando do contacto direto com os adesivos, foi realizado o estudo *in vitro* da viabilidade celular, estudando assim o perfil citotóxico dos adesivos foto-reticulados. Este estudo foi realizado através da técnica *3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium* (MTS), seguindo metodologias desenvolvidas nos laboratórios da UBI e segundo a norma ISO 10993-5.

Inicialmente, procedeu-se à esterilização dos adesivos por incidência contínua de luz UV, durante 30 minutos. De seguida, as células de fibroblastos humanos foram cultivadas em contacto direto com os adesivos, numa densidade de  $10 \times 10^3$  células por amostra, em placas de 96 poços, durante períodos de incubação de 1, 3 e 7 dias. O meio de cultura utilizado foi o DMEM-F12, com suplemento de 100 µg/mL de estreptomicina, FBS (10% v/v) e 100 µg/mL de gentamicina.

Ao longo do teste, as enzimas mitocondriais presentes nas células viáveis, convertem o MTS num produto designado de *formazan*, dando origem a uma solução com tonalidade púrpura, solúvel em água. Terminado o período de incubação, o meio de cultura em cada poço foi removido e substituído por 100 µL de meio fresco com 20 µL de solução reagente MTS/PMS. Posteriormente, as células foram incubadas a 37 °C, durante 4 horas, numa atmosfera húmida com 5% de CO<sub>2</sub>. Através de um leitor de microplacas *Anthos 2020 (Safoni, Diagnostics Pauster)*, a absorvância da solução colorida foi medida.

Por fim, foram preparados simultaneamente controlos negativos, K<sup>-</sup>, que corresponde à cultura de células na ausência dos materiais e os controlos positivos, K<sup>+</sup>, onde foi adicionado etanol (96%) às células cultivadas nos poços. Os resultados do crescimento celular foram obtidos pela monitorização através de um microscópio ótico *Olympus CX41*, equipado com uma câmara digital *Olympus SP-500 UZ*.





### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Síntese dos poliésteres insaturados

Como referido na Secção 2.2, correspondente aos Métodos de Síntese, foram preparadas e testadas diferentes formulações de poliésteres insaturados. Primeiramente, procedeu-se à preparação dos polímeros e de seguida, iniciou-se o processo de foto-reticulação e posterior caracterização dos materiais produzidos.

Os PIs foram preparados por policondensação com um diol e um diácido, na ausência de catalisador. O ácido carboxílico escolhido foi o ácido itacónico, como referido na Secção 1.3.1 e foram selecionados dois dióis, o 1,6-hexanodiol e o etilenoglicol, já justificado na Secção 1.3.2. Para além destes, e de forma a evitar a reticulação das ligações duplas insaturadas durante o armazenamento, foi ainda adicionado hidroquinona (0,02% m/m) a todas as reações, um dos inibidores mais usuais para síntese de poliésteres [1], [64].

Na Tabela 3.1 encontram-se os diferentes reagentes utilizados e respetiva estequiometria, bem como as condições operatórias das oito reações de policondensação realizadas.

**Tabela 3.1** – Reações de policondensação realizadas e respetivas condições.

Nº	Reagentes		Solvente	Estequiometria	Temperatura (°C)	VA final	Tempo de reação (h:min)	Posterior nomenclatura
	Diol	Diácido						
I	HDO	IA	-	1:1	160	36,22	19h15min	-
II	EG	IA	-	1:1	160	48,21	43h	-
III	HDO	IA	-	2:1	170	29,62	13h20min	R4
IV	HDO	IA	-	1:1	170	46,77	15h45min	-
V	EG	IA	-	1:1	170	45,73	18h20min	-
VI	EG	IA	-	2:1	170	48,72	13h20min	R2
VII	HDO	IA	Sim	1:1	170	45,17	16h10	R3
VIII	EG	IA	Sim	1:1	170	43,62	19h	R1

Relativamente às reações IV e V, e devido à sua elevada viscosidade, as mesmas foram repetidas na presença de éter dietílico (VII e VIII), um dos solventes usados na indústria farmacêutica e de baixa toxicidade, de forma a tornar o produto das reações menos viscoso e consequentemente, ajudar a sua manipulação [65]. Nestas, após o término da reação, o banho de óleo de silicone foi colocado a 60 °C e foi colocado um condensador, de forma que a reação ocorresse com refluxo de solvente, uma vez que o éter dietílico é bastante volátil.

## Resultados e Discussão

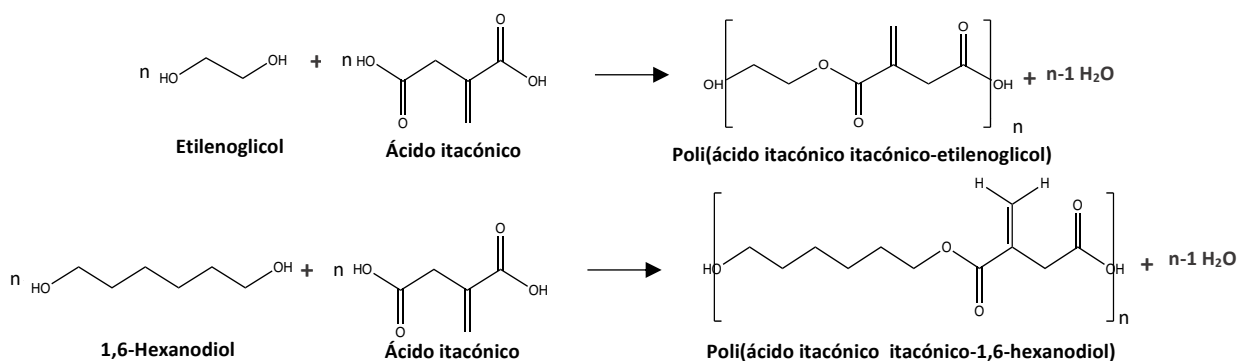
Das oito reações desenvolvidas, apenas as reações III, VI, VII e VIII avançaram para o processo de caracterização, uma vez que não foi possível caracterizar todos os materiais devido às propriedades mecânicas insatisfatórias dos mesmos, como a elevada viscosidade, o respectivo tempo de reação e o prazo estipulado para a realização deste projeto.

Desta forma, neste Capítulo serão analisados os resultados relativos aos poliésteres insaturados sintetizados das reações III, VI, VII, VIII. Assim, a nomenclatura abordada será a seguinte:

- R1: Reação de EG+IA 1:1 170°C;
- R2: Reação de EG+IA 2:1 170°C;
- R3: Reação de HDO+IA 1:1 170°C;
- R4: Reação de HDO+IA 2:1 170°C;

Os poliésteres insaturados obtidos em R1 e R3 são mais viscosos do que os R2 e R4. Os resultados da evolução dos valores ácidos ao longo do tempo de reação e pH podem ser observados no Anexo E.

A Figura 3.1 apresenta as estruturas dos PIs referidos anteriormente, de forma a ser possível uma comparação entre as diferentes estruturas [39].



**Figura 3.1** - Reações de policondensação entre os reagentes utilizados, e respectivos produtos.

A foto-reticulação foi conseguida devido às ligações duplas do ácido itacónico e do uso de 4 % de fotoiniciador radicalar, Irgacure<sup>®</sup> 2959. A percentagem de fotoiniciador utilizada diz respeito ao número de moles de ligações duplas de carbono existentes. Essa proporção foi escolhida após uma avaliação preliminar para definir o tempo de reticulação. O fotoiniciador selecionado é biocompatível e altamente eficiente quando ativado através de luz UV de comprimento de onda 365 nm [14], [66]. Assim, foi possível obter adesivos ao fim de apenas 45 segundos.

### 3.2 Análise por ATR-FTIR

Com o objetivo de identificar os grupos funcionais e as ligações químicas dos poliésteres sintetizados e dos materiais foto-reticulados, realizou-se uma análise por ATR-FTIR.

Na Tabela 3.2 encontram-se os grupos funcionais de interesse aos PIs, assim como os intervalos de número de onda correspondentes [67].

**Tabela 3.2** – Número de onda e estruturas químicas dos grupos funcionais presentes nos monómeros, PIs e adesivos.

Grupo Funcional		Número de onda (cm <sup>-1</sup> )
Grupo	Estrutura	
Hidroxilo	—OH	3200-3570
Alquilo	—CH <sub>2</sub> —	2935-2915/2865-2845
Éster	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{—C—O—} \end{array}$	1750-1725
Carboxílico	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{—C} \\ \diagdown \\ \text{OH} \end{array}$	3300-2500/1725-1700
Alceno	—C=C—	1680-1600
Éter	—O—	1150-1050

Primeiramente, analisaram-se os quatro PIs sintetizados. Na Figura 3.2 encontram-se os espectros da análise ATR-FTIR para os referidos PIs.

## Resultados e Discussão

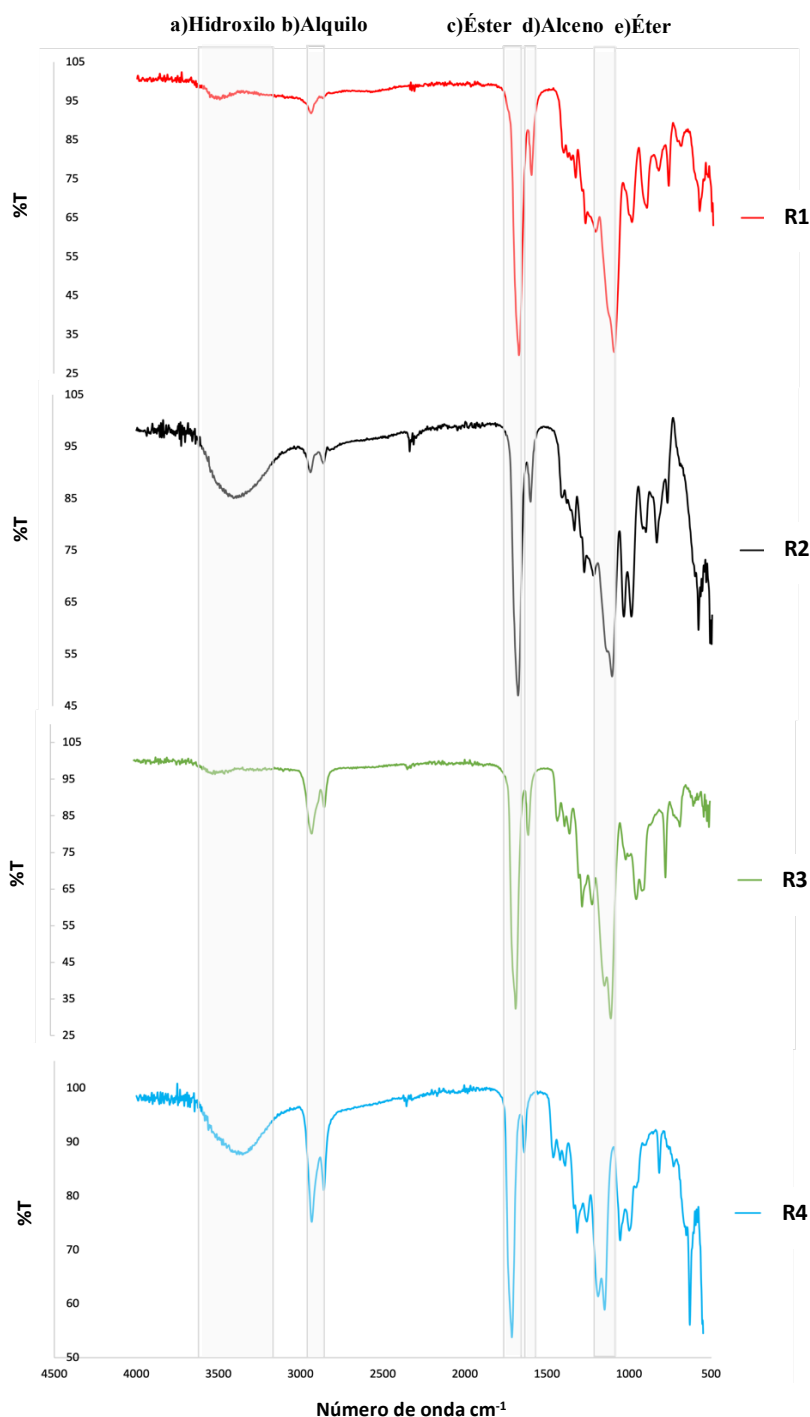


Figura 3.2 - Espectros de ATR-FTIR correspondentes aos poliésteres insaturados R1, R2, R3 e R4.

Pela análise dos espectros dos quatro poliésteres sintetizados e, tal como era espectável, está presente o grupo éster, entre  $1750\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$ , representado por (c). É ainda possível notar que entre os  $1680\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$  (d) se observa a presença de ligações duplas ( $\text{C}=\text{C}$ ), o que permite concluir que estes materiais são suscetíveis a reticulação.

No que diz respeito à banda de absorção na região característica do grupo hidroxilo (a), situada entre  $3200\text{-}3570\text{ cm}^{-1}$ , esta indica a presença de grupos OH por reagir na estrutura do material. Para além disso, é possível observar que esta banda é muito mais acentuada nos

espectros R2 e R4, o que significa que o etilenoglicol e o 1,6-hexanodiol, respetivamente, estavam em maior quantidade nestas reações, quando comparados com R1 e R3.

À semelhança do grupo éster, que está presente em todos os poliésteres insaturados sintetizados, também a banda representada por (e), que demonstra o pico característico do grupo éter, localizado entre 1150-1050  $\text{cm}^{-1}$ , está presente em R1, R2, R3 e R4. Para além destes, também os grupos alquilo estão presentes (b) e os seus picos estão compreendidos entre 2935-2915 e 2865-2845  $\text{cm}^{-1}$ . Também é possível verificar que, os espectros de R3 e R4 apresentam maior intensidade do pico representado por (b) quando comparados com os espectros de R1 e R2. Este aumento da intensidade do pico é consequente do aumento de grupos alquilo no polímero, uma vez que para R3 e R4, o diol utilizado (HDO) apresenta maior número de carbonos na cadeia principal, quando comparado com R1 e R2, no qual se utiliza EG.

Por fim, analisaram-se os espectros ATR-FTIR dos filmes produzidos, para uma melhor compreensão de como o processo de foto-reticulação por UV e respetivos tempos de reticulação, influenciam a estrutura química dos materiais. Desta forma, as Figuras 3.3, 3.4, 3.5 e 3.6, apresentam os espectros obtidos para os materiais reticulados.

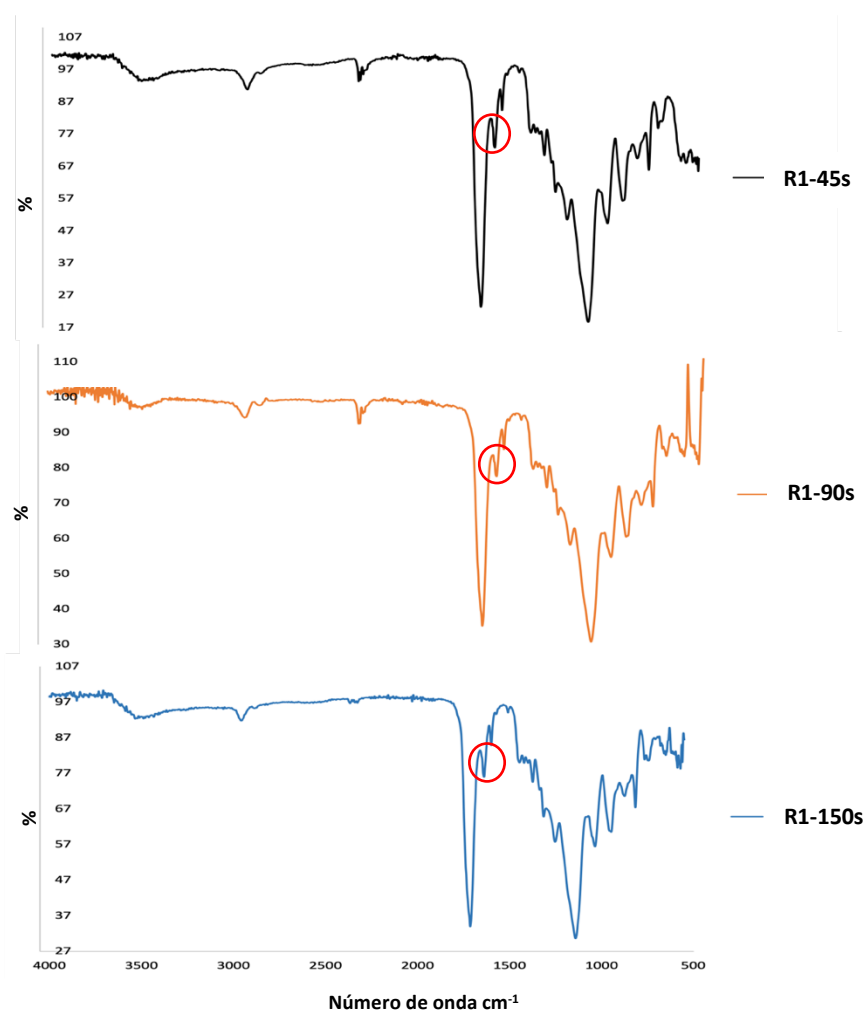
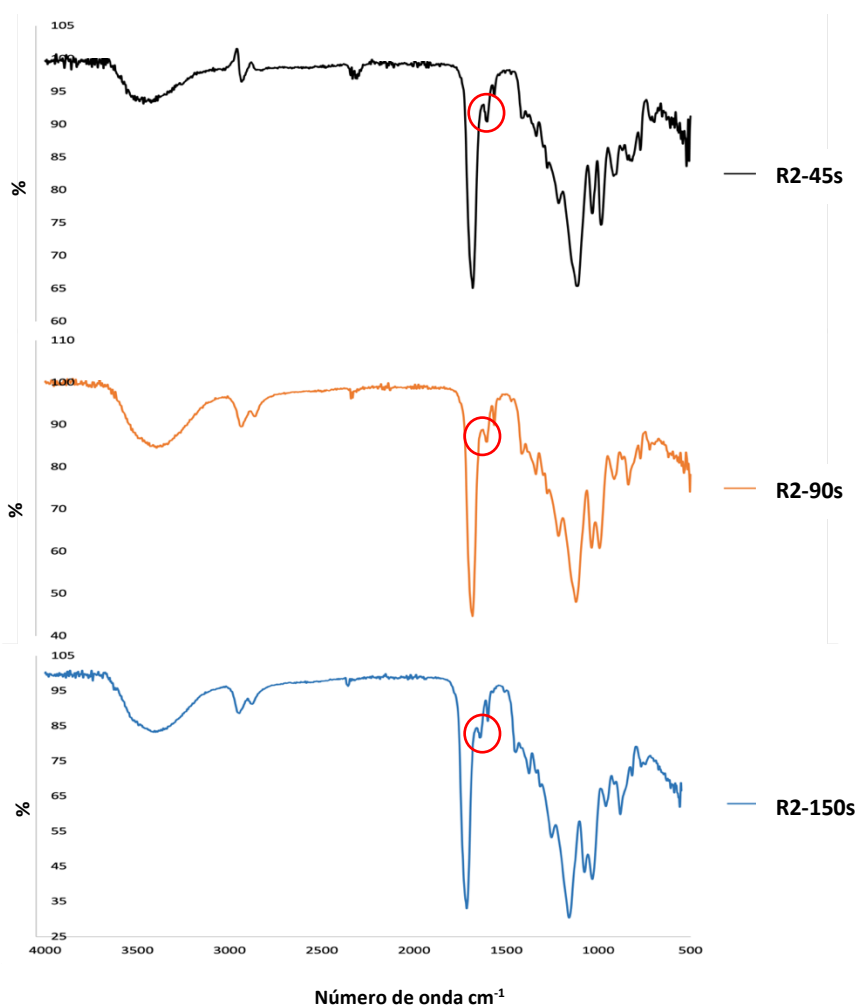


Figura 3.3 - Espectros de ATR-FTIR correspondentes ao material reticulado de R1, durante 45, 90 e 150 s de irradiação UV.

## Resultados e Discussão

É espectável que a principal diferença registada entre os espectros ATR-FTIR realizados antes e após a irradiação UV, seja a diminuição/ausência da banda de ligações duplas de carbono no material reticulado. O desaparecimento desta banda indica que o adesivo está completamente reticulado.

Desta forma, pela análise da Figura 3.3 verifica-se uma ligeira diminuição do pico relativo às ligações duplas C=C, entre 1680-1600  $\text{cm}^{-1}$ , devido à conversão das mesmas durante o processo de foto-reticulação. É de notar que, à medida que o tempo de reticulação aumentou, dos 45 s para os 90 s, ocorreu uma diminuição desse mesmo pico. No espectro referente aos 150 s, a diferença do pico C=C não foi observado. No entanto, apesar do aumento do tempo de irradiação UV provocar um desaparecimento da ligação dupla C=C, esse mesmo aumento do tempo de irradiação UV não é pretendido dado a aplicação biomédica.



**Figura 3.4** - Espectros de ATR-FTIR correspondentes ao material reticulado de R2, durante 45, 90 e 150 s de irradiação UV.

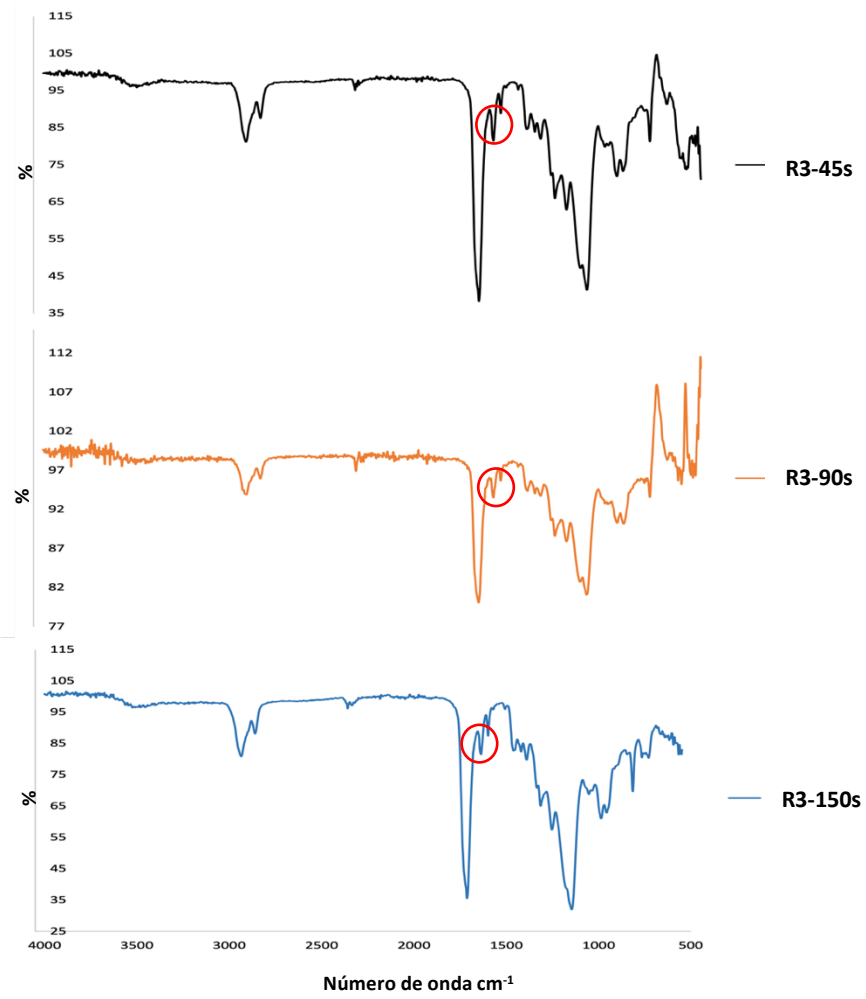
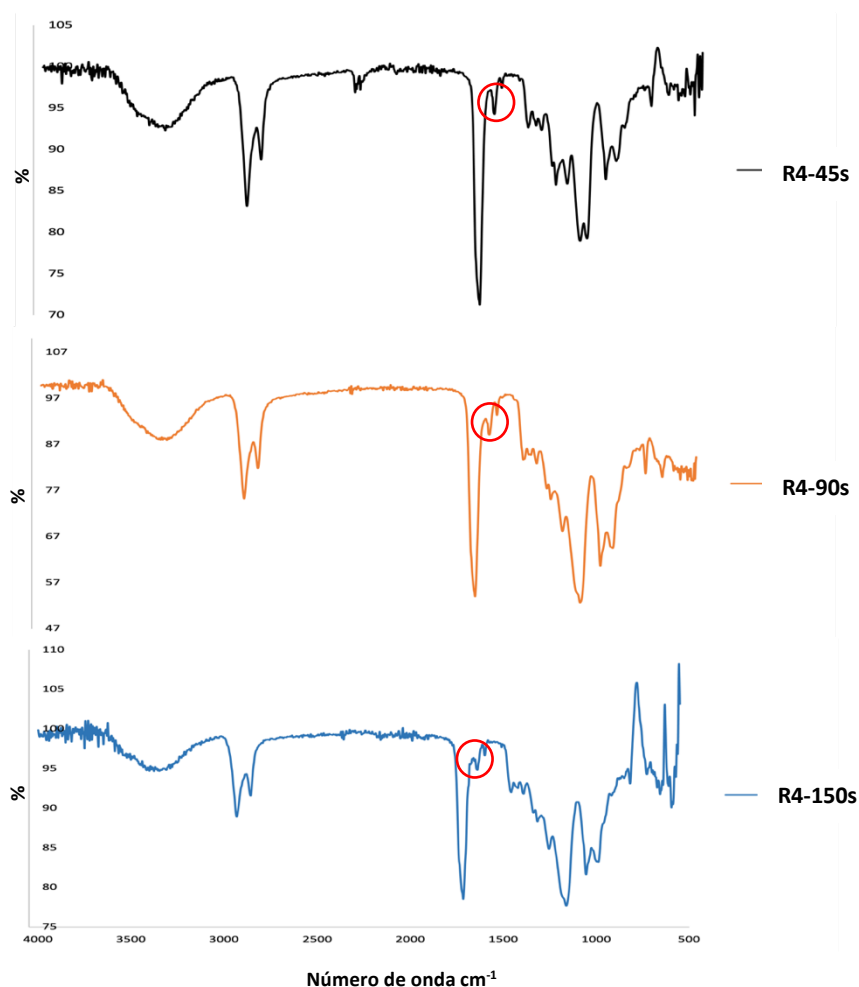


Figura 3.5 - Espectros de ATR-FTIR correspondentes ao material reticulado de R3, durante 45, 90 e 150 s de irradiação UV.

## Resultados e Discussão



**Figura 3.6** - Espectros de ATR-FTIR correspondentes ao material reticulado de R4, durante 45, 90 e 150 s de irradiação UV.

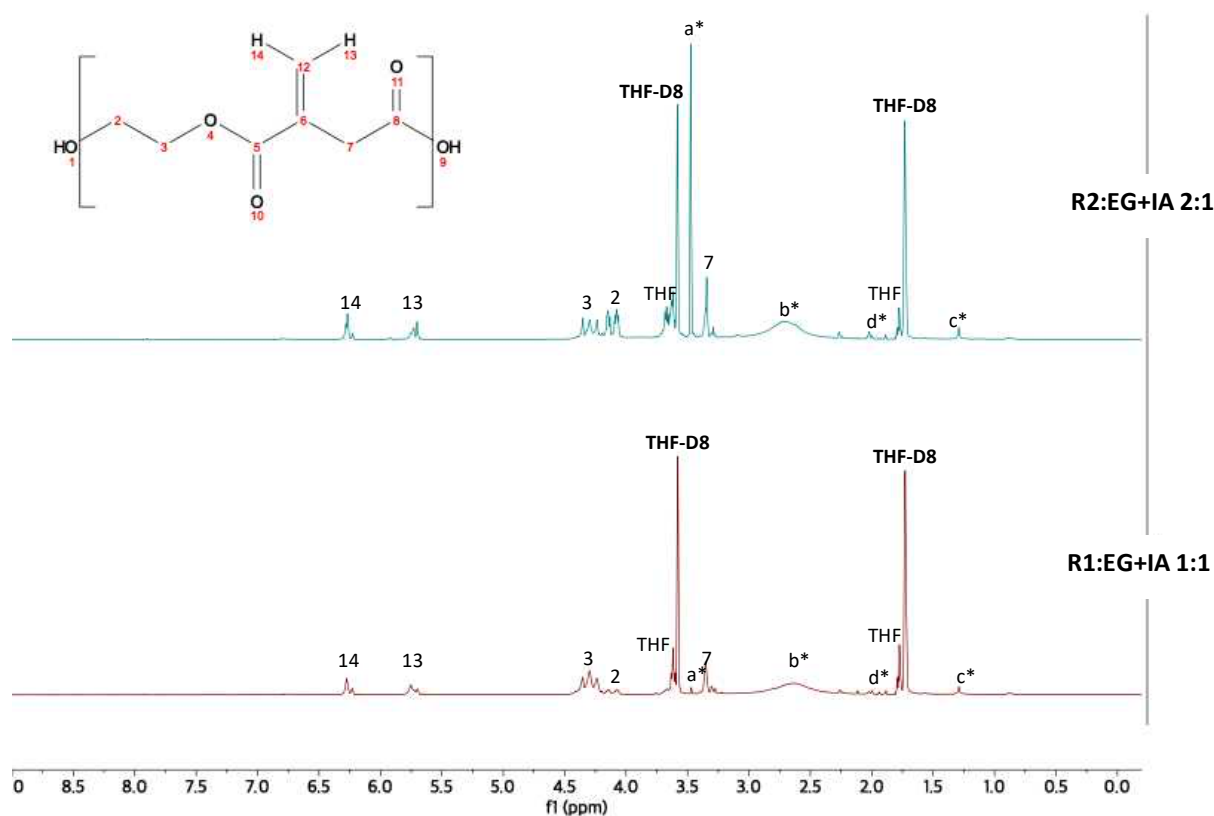
Pela análise das Figuras 3.4, 3.5 e 3.6, verificou-se uma diminuição significativa dos picos relativos às ligações duplas C=C na mesma gama, 1680-1600  $\text{cm}^{-1}$ . Nos adesivos de R2, R3 e R4, foi bastante notório que, à medida que o tempo de reticulação aumentou, ocorreu uma diminuição do pico referente às ligações duplas C=C. Assim, é possível concluir que, de entre os tempos usados, os tempos de reticulação (45 s e 90 s) ainda não são suficientes para uma boa reticulação do material. Os adesivos cujo tempo de reticulação foi de 150 s é aquele que apresenta um pico menos acentuado relativo às ligações C=C e, conseqüentemente, o que apresenta maior conversão de ligações C=C e, desta forma, o que se encontra mais próximo de uma reticulação completa.



### 3.3 Análise por RMN

Pela análise dos espectros de  $^1\text{H}$  RMN, pretende-se confirmar a estrutura esperada dos poliésteres insaturados sintetizados.

Assim, nas Figuras 3.7 e 3.8 são apresentados os espectros  $^1\text{H}$  RMN das diferentes reações e os espectros dos reagentes no Anexo F para melhor compreensão dos mesmos. Os desvios químicos são reportados em partes por milhão (ppm) relativamente aos sinais residuais do solvente, THF-D8 ( $\delta=3,58$  ppm e  $\delta=1,73$  ppm), relativamente ao tetrametilsilano (TMS) ( $\delta=0.00$  ppm). A análise dos restantes picos será realizada de forma individual, ou seja, para cada poliéster. Ainda que as estruturas resultantes sejam idênticas, isto é, apenas apresentam maior número de carbonos na cadeia principal, originam espectros distintos.



**Figura 3.7** - Espectros de  $^1\text{H}$  RMN relativos aos poliésteres insaturados à base de etilenoglicol e ácido itacónico.

Pela análise dos espectros de  $^1\text{H}$  RMN, Figura 3.7, é possível verificar a semelhança da composição dos dois poliésteres sintetizados a partir de ácido itacónico e etilenoglicol.

Relativamente aos espectros do polímero à base de etilenoglicol, observa-se um pico em 6,27 ppm e 5,75 ppm, (14) e (13) respetivamente, relativos aos protões da ligação dupla característica do ácido itacónico, insinuando o facto de estas se manterem intactas no final da reação [45]. Estes protões não apresentam o mesmo desvio químico, uma vez que não são equivalentes [45]. Os picos (13) e (14) encontram-se menos blindados correspondendo à gama

## Resultados e Discussão

dos desvios químicos das ligações duplas [68]. A multiplicidade dos sinais, que diz respeito ao número de prótons acoplados ao núcleo vizinho, faz com que os prótons de (3) originem tripletos e os prótons de (2), originem multipletos.

Por último, os picos representados com um asterisco (\*), dizem respeito a possíveis impurezas presentes nas amostras [45], [69]. Em 3,47 ppm, (a\*), está presente etilenoglicol, sendo o seu pico mais acentuado no espectro de R2, uma vez que esta reação tem etilenoglicol em excesso [69]. O pico representado a (b\*),  $\delta=2,71$  ppm, diz respeito à água proveniente da reação e o pico (c\*) a 1,25 ppm corresponde à “grease”, a gordura de silicone utilizada na união de peças de vidro da montagem reacional [69]. Por fim, o pico (d\*) diz respeito a um isómero do AI, mesaconato, em 2,05 ppm [45]. É recorrente que, monómeros de itaconato sejam isomerizados para o equivalente mesaconato (cerca de 8%), pelo que se torna visível a sua presença nos espectros de  $^1\text{H}$  RMN [45].

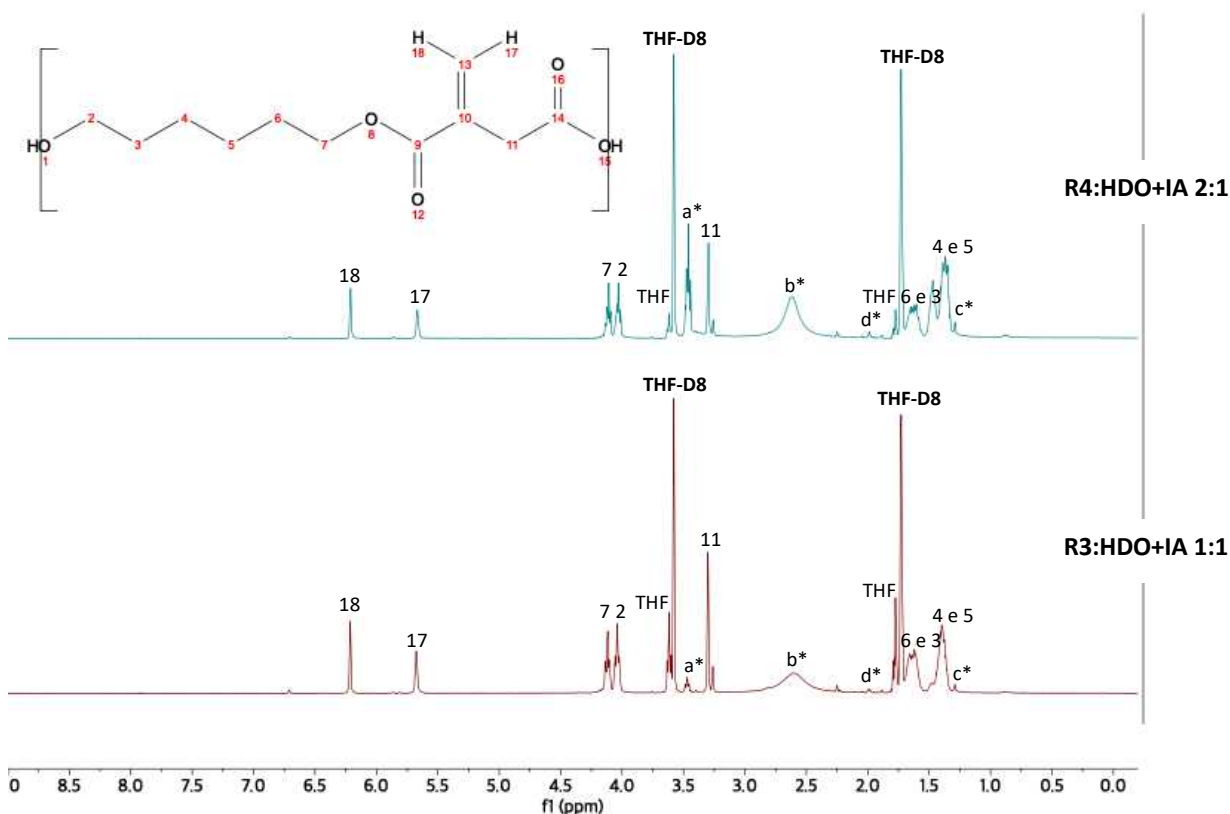


Figura 3.8 - Espectros de  $^1\text{H}$  RMN relativos aos poliésteres insaturados à base de 1,6-hexanodiol e ácido itacónico.

Pela Figura 3.8, é possível verificar que a estrutura relativa às reações de ácido itacónico e 1,6-hexanodiol foi confirmada.

Estão presentes singletos relativos aos prótons da ligação dupla característica do ácido itacónico em 6,20 ppm e 5,57 ppm, representados em (18) e (17). No entanto, previa-se que estes prótons originassem dubletos, tal não se sucedeu uma vez que a multiplicidade do sinal não se encontra bem definida, o que pode estar relacionado com a quantidade de amostra do

polímero utilizada ou problemas do RMN. No que diz respeito aos prótons de algumas ligações  $-CH_2$ , representados por (7) e (2), estes originam multipletos. Seria de esperar que o pico 7 originasse um tripleto, no entanto, esta mudança pode estar relacionada com a aleatoriedade da insaturação e possíveis saturações das ligações duplas provenientes do ácido itacónico, pelo que, dessa forma, dão origem a diferentes interações [39], [45].

Os restantes prótons das ligações  $-CH_2$ , encontra-se um singlete a 3,31 ppm (11), multipletos a 1,59 ppm (6 e 3) e 1,39 ppm (4 e 5), como era espectável [39].

Relativamente aos picos das impurezas, está presente água (b\*), silicone (c\*) e metaconato (d\*), já identificadas nos espectros relativos às reações de etilenoglicol. É também observável o facto do pico a 3,47 ppm, representado por (a\*), ser mais acentuado na reação de 1,6-hexanodiol em excesso relativamente ao AI, uma vez que é proveniente do HDO que não reagiu.

### 3.4 Determinação do teor de gel

O teor de gel foi determinado com o objetivo de determinar o grau de reticulação dos filmes desenvolvidos. De notar que, filmes com 100% de teor de gel apresentam conversão total de ligações duplas de carbono [29].

Na Figura 3.9, encontram-se os valores obtidos de % de teor de gel para os adesivos dos quatro poliésteres insaturados sintetizados, para os diferentes tempos de reticulação fotoquímica estudados, 45 s, 90 s e 150 s. De forma a aferir os erros associados, foram usadas 3 amostras de cada um dos adesivos. Os resultados são expressos na forma de média e desvio padrão.

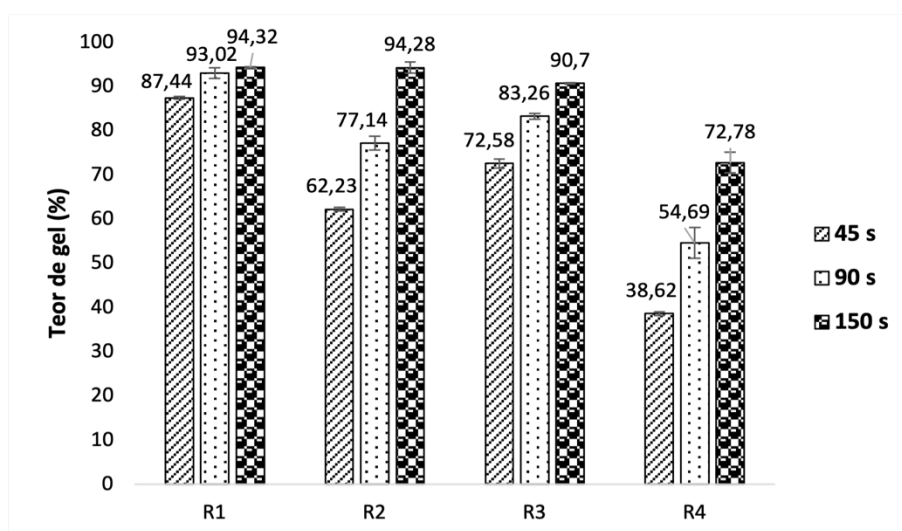


Figura 3.9 - Valores percentuais de teor de gel dos adesivos desenvolvidos, para diferentes tempos de reticulação.

## **Resultados e Discussão**

De acordo com a Figura 3.9, é possível verificar que o processo de reticulação depende do tempo de irradiação UV. Um aumento do mesmo resulta num aumento do teor de gel, pelo que, os filmes tornam-se mais rígidos e compactos.

À semelhança do previsto, é possível constatar pela Figura 3.9 e pelas Figuras 3.3, 3.4, 3.5 e 3.6 que nenhum adesivo apresenta reticulação completa, tal como sugeriram os resultados de ATR-FTIR.

Os adesivos R1-150s e R2-150s são aqueles que apresentam maior percentagem de teor de gel,  $94,32 \pm 0,20$  % e  $94,28 \pm 1,27$  %, respetivamente. Consequentemente, apresentam maior grau de reticulação, o que indica que tanto o tempo de irradiação UV estabelecido quanto a percentagem do fotoiniciador foram adequados para obter um alto nível de conversão de C=C [70]. Tal resultado pode ser comprovado pela análise da Figura 3.3 e 3.4, nos quais o pico relativo às ligações duplas é pouco significativo. Para além disso, os adesivos que apresentam na sua formulação diol em excesso, apresentam menores valores de teor de gel, comparativamente aos que apresenta ácido itacónico e diol na mesma quantidade.

É possível observar que, para os mesmos tempos de reticulação, os adesivos à base de etilenoglicol apresentam melhores resultados, ou seja, grau de reticulação mais elevado comparativamente aos adesivos de 1,6-hexanodiol. Tal acontece devido ao facto do HDO apresentar maior número de carbonos na cadeia principal, sendo por isso, mais difícil de quebrar as ligações e, conseqüentemente, menor a percentagem de teor de gel.

No final da determinação de teor de gel, considerou-se que o estudo posterior apenas se focaria nos adesivos de R1, R2 e R3, uma vez que os resultados de teor de gel correspondentes aos adesivos de R4 (HDO+IA 2:1) eram relativamente baixos quando comparados com os restantes.

### **3.5 Avaliação da capacidade de absorção de água**

A capacidade de absorção de água e conseqüente aumento do volume do material (inchaço) é um parâmetro muito importante na aplicação dos polímeros sintetizados como adesivos cirúrgicos [70]. A capacidade de absorção de água é um bom indicador da hidrofília/hidrofobicidade do material, e é crucial para qualquer material a ser aplicado como biomaterial [71].

Se o material apresentar um grau moderado de inchaço, pode contribuir para o processo hemostático do material ao longo do processo de cicatrização. No entanto, um aumento da capacidade de absorção acima de 20 %, pode provocar vários danos nos tecidos circundantes, como por exemplo, compressão excessiva de estruturas vasculares, respostas inflamatórias e cicatrização ineficaz, o que impede o seu uso como bioadesivos [27], [70]. Além disso, a

absorção de água é indicativa de uma certa hidrofiliçidade que pode ser uma contribuição importante para biocompatibilidade do material [27].

Para algumas das caracterizações, como teor de gel, capacidade de absorção de água e degradação hidrolítica em solução tampão de PBS, os materiais foto-reticulados foram colocados numa estufa a vácuo de forma a retirar a humidade, proveniente da água formada na reação até os filmes apresentarem peso constante e assim, proceder-se ao início da respetiva caracterização.

Assim, no final de cada reação, estudou-se a quantidade de água presente no balão e nos adesivos. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.3. Os valores de massa de água referentes a R4 não são apresentados, uma vez que, os adesivos de R4 não procederam para posteriores caracterizações.

**Tabela 3.3** - Valores de massa de água presente no condensador no final da reação, nos adesivos e massa total do polímero.

	R1	R2	R3
<b>m</b> água no balão (g)	1,6079	1,6236	0,0144
<b>m</b> água nos adesivos (g)	0,0012±0,0005	0,0271±0,0582	0,0029±0,0012
<b>m</b> Total de polímero (g)	85,0566	79,7398	73,4129

Pela análise da Tabela 3.3, é possível concluir que os adesivos R2 são aqueles que apresentam maior % de água na sua constituição, pelo que são aqueles que necessitam de um período de tempo superior aos restantes para secar até peso constante na estufa a vácuo. É também observável o facto da R3 ser aquela que apresenta menor quantidade de água no balão, pelo que mostra o facto da água poder estar mais presente no polímero sintetizado, uma vez que ainda apresenta um valor de % de água nos adesivos superior ao de R1.

Assim, a capacidade de absorção de água foi determinada para três amostras de cada adesivo sintetizado das três reações, colocadas num exsiccador em atmosfera saturada. Deste modo, nas Figuras 3.10, 3.11, 3.12, estão apresentados os resultados relativos à capacidade de absorção de água dos adesivos sintetizados, nos primeiros três dias, dado que ao fim das mesmas, já se tinha atingido o valor máximo da capacidade de absorção de água.

## Resultados e Discussão

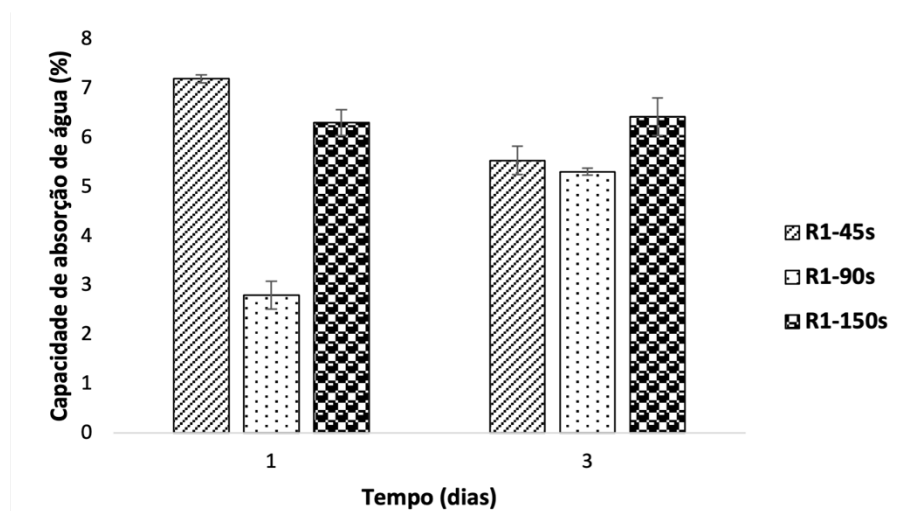


Figura 3.10 - Valores da capacidade de absorção de água, em percentagem, para os adesivos R1, após 1 e 3 dias.

Pela análise da Figura 3.10, relativa aos adesivos da reação EG+IA 1:1, apenas o adesivo R1-45s atinge a capacidade de absorção máxima ao fim de 1 dia,  $7,20 \pm 0,08$  %. Os adesivos R1-90s e R1-150s apenas atingiram a capacidade de absorção máxima ao fim de 3 dias. Quando atingida a capacidade de absorção máxima, as amostras apresentam uma capacidade de absorção menor. Este acontecimento sugere que após a capacidade de absorção de água atingir o seu valor máximo, ocorre degradação hidrolítica, devido à suscetibilidade da ligação éster à hidrólise [18]. Assim, ao fim de 6 semanas, os adesivos R1-45s, R1-90s e R1-150s, apresentam respetivamente  $2,45 \pm 1,80$  %,  $2,07 \pm 0,19$  % e  $2,05 \pm 0,24$  % de perda de massa.

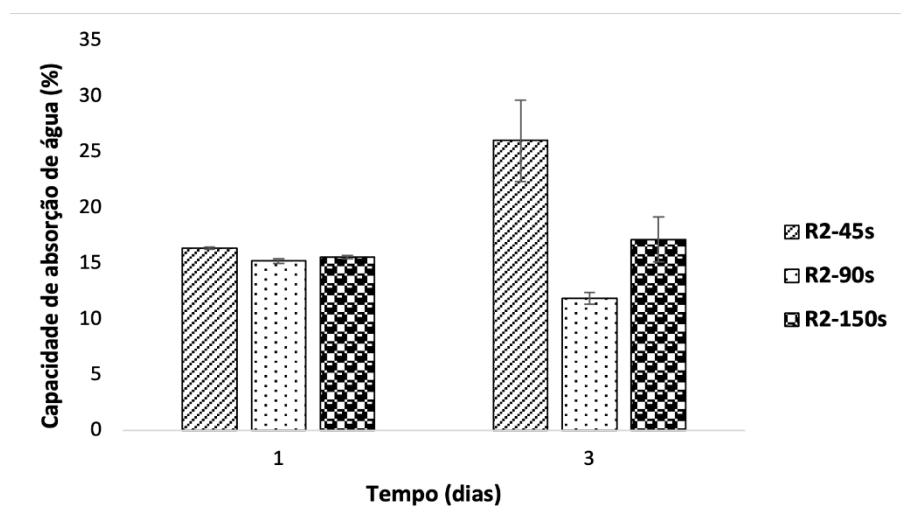


Figura 3.11 - Valores da capacidade de absorção de água, em percentagem, para os adesivos R2, após 1 e 3 dias.

No que diz respeito aos adesivos da reação de etilenoglicol em excesso, é possível observar pela Figura 3.11, que após 3 dias, a capacidade de absorção de água dos adesivos R2-45s e R2-150s atingiu o valor máximo ( $16,36 \pm 0,10$  % e  $17,14 \pm 2,01$  %, respetivamente), sendo que os adesivos R2-90s ao fim de 1 dia já tinham atingido a sua capacidade máxima de absorção de água,  $15,21 \pm 0,20$  %. Como mencionado anteriormente, ao fim desses dias, ocorre

degradação hidrolítica e, ao fim de 6 semanas, os adesivos R2-45s, R2-90s e R2-150s, apresentam  $1,91 \pm 0,16$  %,  $1,92 \pm 0,34$  % e  $2,96 \pm 0,00$  % de perda de massa, respetivamente.

Relativamente ao adesivo R2-45s, ao fim de 3 dias, este é o que apresenta maior % de capacidade de absorção de água  $26,01 \pm 3,65$  % comparativamente a todos os adesivos sintetizados, sendo assim o que apresenta maior hidrofiliicidade. A par disso, é possível relacionar os resultados obtidos com os do teor de gel, ou seja, com o grau de reticulação do adesivo, Figura 3.9 [35]. O adesivo R2-45s é também aquele que apresenta menor % de teor de gel,  $62,23 \pm 0,40$  %, Figura 3.9. Este facto pode ser justificado com o facto de quanto menos reticulado o adesivo, menos rígida e compacta é a estrutura, maior o espaço livre na matriz, o que facilita a penetração de água na mesma e consequentemente, maior a capacidade de absorção de água [35].

Também foi possível relacionar os resultados das Figuras 3.10 e 3.11, comentados anteriormente, uma vez que ambos provêm de reações à base de etilenoglicol e ácido itacónico. No entanto, para a Figura 3.11, o etilenoglicol encontra-se em excesso. Estes apresentam maior capacidade de absorção de água para os mesmos tempos de reticulação, quando comparados com os valores obtidos para os filmes da reação em que o etilenoglicol e o ácido itacónico apresentam a mesma quantidade. Tal é espectável dado que, quando o etilenoglicol está em excesso, há um aumento de grupos terminais, como o grupo hidroxilo ou carboxílico e, estes grupos conferem um carácter mais hidrofílico aos adesivos, devido à sua polaridade [72]. Desta forma, a capacidade de absorção aumenta.

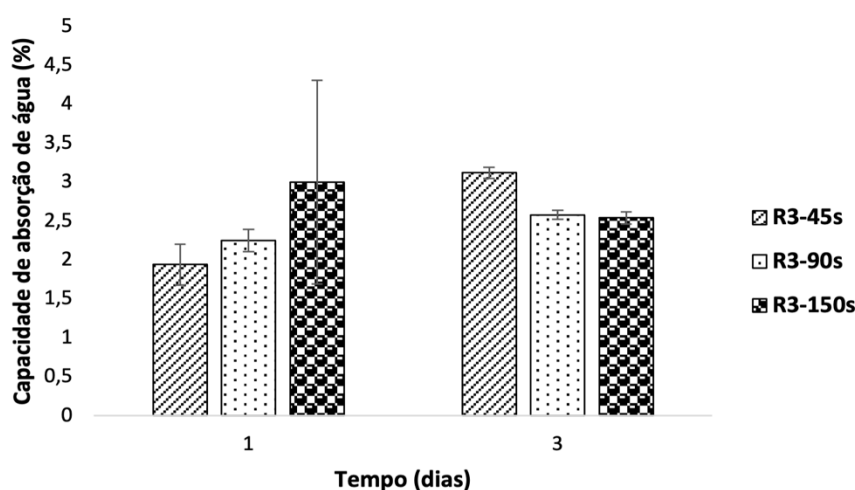


Figura 3.12 - Valores da capacidade de absorção de água, em percentagem, para os adesivos R3, após 1 e 3 dias.

Através da análise da Figura 3.12, referente aos adesivos da reação HDO+IA 1:1, verifica-se os adesivos R3-45s e R3-90s, atingem a capacidade de absorção máxima ao fim de 3 dias, sendo que o adesivo R3-150s ao fim de 1 dia já atingiu a sua capacidade máxima de absorção de água,  $3,00 \pm 1,31$  %. É possível verificar que, para este adesivo, após os 3 dias e

## ***Resultados e Discussão***

atingido a sua capacidade máxima de absorção de água, o adesivo R3-90s é o que apresenta um carácter mais hidrofóbico comparativamente a todos os adesivos sintetizados, ou seja, o que apresenta menor % de absorção de água,  $2,58 \pm 0,08$  %.

Como referido anteriormente há perda de massa e, ao fim de 6 semanas, os adesivos R3-45s, R3-90s e R3-150s, apresentam  $2,62 \pm 0,07$  %,  $2,45 \pm 0,10$  %,  $2,34 \pm 0,1$  % de perda, respetivamente.

Todas as amostras analisadas, à exceção do adesivo R2-45s, mostraram-se adequadas para aplicação como adesivo por apresentarem graus moderados de absorção de água (inferiores a 20 %). Os graus moderados de absorção de água atendem aos requisitos e a natureza hidrofílica dos adesivos finais, o que contribui para uma melhoria na biocompatibilidade [13]. Teria sido pertinente realizar um estudo relativo à variação de volume do adesivo, uma vez que cada polímero (devido à sua composição e estrutura tridimensional das moléculas), tem alterações de volume diferentes quando absorvem a mesma massa de água.

### **3.6 Degradação hidrolítica em solução de PBS**

Um dos principais desafios no desenvolvimento de biomateriais, como nos adesivos cirúrgicos, prende-se com a biodegradabilidade. Dependendo do local de aplicação, os bioadesivos para aplicação cutânea podem ser removidos, no entanto, para aplicações internas, estes necessitam de ser absorvidos pelo organismo. Assim, para aplicação interna, a biodegradabilidade dos materiais torna-se um aspeto crucial [2].

Um adesivo deve ser biodegradável por meio de hidrólise ou degradação enzimática, e os seus produtos de degradação não devem ser tóxicos, irritantes, alergénicos ou carcinogénicos [73]. O adesivo deve manter a sua integridade estrutural e funcional, e permanecer estável durante um período de tempo necessário de forma a manter os tecidos aderentes juntos, até que ocorra a regeneração substancial do tecido. Após a recuperação completa, o material deve degradar-se completamente sem qualquer intervenção. Estudos indicam que a degradação ideal de um adesivo aplicado deve começar após 3 semanas da aplicação, e todos os componentes do adesivo devem estar completamente degradados após 2 meses [74]. Esse período de degradação está de acordo com o processo natural de cicatrização de feridas [73].

Para avaliar a degradação hidrolítica dos materiais foto-reticulados, três amostras de cada adesivo das três reações foram colocadas numa solução salina de tampão fosfato (PBS, pH=7,4), solução essa que permite simular as condições fisiológicas. As amostras foram assim colocadas a 37°C, por 6 semanas (42 dias), de forma a reproduzir a temperatura fisiológica do corpo humano. Estes adesivos foram resultado de uma exposição de 45 s, 90 s e 150 s a irradiação UV. Pretendeu-se avaliar a variação de massa ao longo de diversos tempos de



incubação pré-determinados (24 h, 72 h, 1, 2, 3, 4 e 6 semanas). A Figura 3.13 mostra a influência do tempo pré-determinado no perfil de perda de peso dos diferentes adesivos.

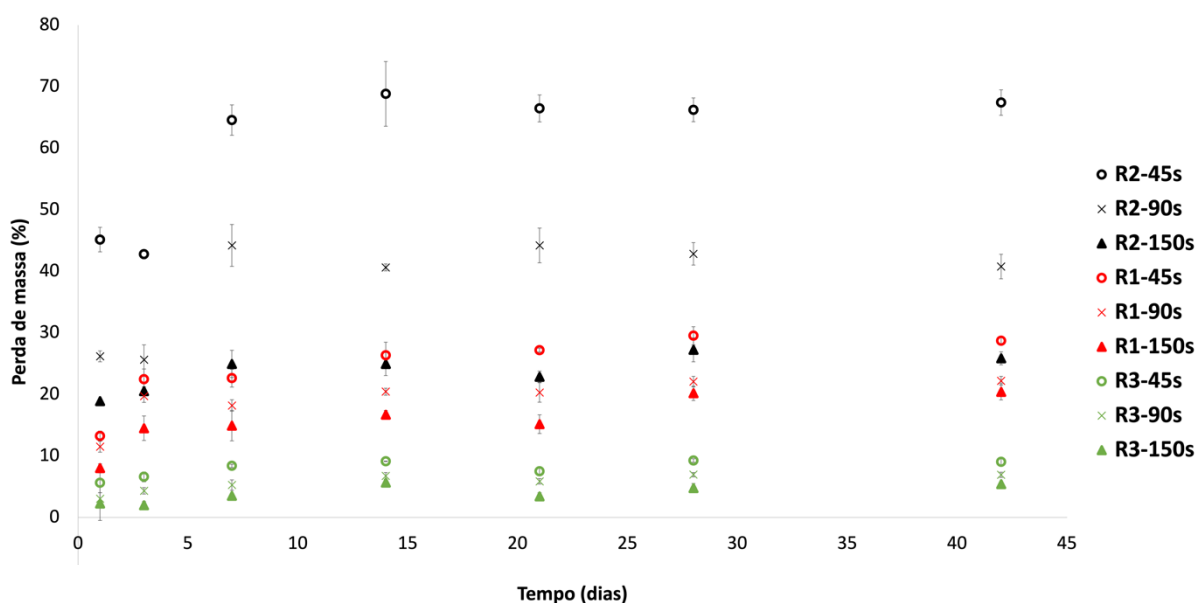


Figura 3.13 - Perda de massa, em percentagem, dos adesivos R1, R2 e R3, por hidrólise em solução PBS, durante 6 semanas.

De acordo com os resultados obtidos, foi possível verificar que a degradação das amostras apresenta um perfil logarítmico, ou seja, a perda de peso ocorre de forma mais significativa durante os primeiros dias de incubação [18]. Tal acontece devido à libertação de moléculas ainda presentes na matriz, que não reagiram após a irradiação UV [75].

Após as primeiras 24 h de incubação, os adesivos R2 apresentaram uma elevada percentagem de perda de massa. Como referido anteriormente, as moléculas de EG em excesso que não reagiram, podem ser a principal causa desta brusca perda de peso nas primeiras 24 h. O mesmo não se verifica para os adesivos R1 e R3, uma vez que nestes, o ácido itacónico e o diol estão na mesma quantidade.

Pela análise da Figura 3.13 é possível aferir que a perda de peso depende do grau de reticulação, isto é, quanto menor o grau de reticulação, maior a percentagem de perda de peso. O adesivo R2-45s apresentou a maior percentagem de perda de peso,  $45,13 \pm 1,99$  % em apenas 24 h e  $67,41 \pm 2,08$  % após 6 semanas. Isto deve-se sobretudo ao facto deste adesivo ser o que apresenta um menor grau de reticulação  $62,23 \pm 0,4$  %, como é possível observar na Figura 3.9. Após 7 dias, todos os adesivos de R2, estabilizaram a % de perda de peso.

Em relação ao adesivo R1-150s, apresentou uma perda inicial de  $8,02 \pm 0,68$  %, atingindo o valor máximo de  $20,41 \pm 0,33$  %, após 6 semanas. Este baixo valor de perda de massa deve-se ao facto deste adesivo ser aquele que apresenta maior percentagem de teor de gel,  $94,32 \pm 0,20$  %.

## **Resultados e Discussão**

Por outras palavras, quanto maior densidade de reticulação, a estrutura é mais compacta e rígida, sendo mais resistente à degradação hidrolítica.

Embora os adesivos R3 apresentem os menores valores de teor gel, Figura 3.9, comparativamente aos adesivos R1, seria de esperar que os adesivos à base de 1,6-hexanodiol apresentassem maiores percentagens de perda de peso. No entanto, apresentaram a menor perda de peso (5,40 a 9,03 %, ao fim de 6 semanas), uma vez que os adesivos de HDO apresentam peso molecular superior e, conseqüentemente, um maior número de carbonos na cadeia principal e, de modo geral, polímeros com cadeias mais longas, tendem a degradar-se mais lentamente comparativamente aos polímeros com cadeias mais curtas, uma vez que o elevado número de ligações dificulta o processo de degradação [73].

Para além disso, a baixa perda de peso dos adesivos à base de HDO pode estar relacionada aos baixos valores obtidos na capacidade de absorção de água, resultantes dos elevados valores de teor de gel [35].

De realçar que, os resultados obtidos na degradação hidrolítica em PBS estão em concordância com os resultados obtidos na capacidade de absorção de água, os adesivos que apresentam maior capacidade de absorção de água, são também aqueles que apresentam maior % de perda de massa. Isto deve-se ao facto de uma maior capacidade de interação com as moléculas de água promover a expansão da matriz e assim, penetrar na rede onde as ligações éster estão disponíveis, de forma a acelerar a sua degradação hidrolítica [29].

Apesar dos resultados obtidos, este estudo não consegue assegurar o sucesso da aplicação *in vivo* dos adesivos, uma vez que a degradabilidade também depende de outros fatores não avaliados como, o local de implementação, a presença de enzimas (uma ligação éster é facilmente degradada por enzimas) e tamanho e formato do adesivo [76].

### **3.7 Determinação de ângulos de contacto dinâmicos**

A molhabilidade da superfície do material é um dos parâmetros mais importantes, afetando a adesão celular, diferenciação e proliferação [72]. Esta característica dos biomateriais pode ser avaliada através da medição dos ângulos de contacto entre uma gota e a superfície do material [29].

Conforme a literatura, a superfície do material é considerada hidrofóbica quando o ângulo de contacto está compreendido entre 90° e 150° e hidrofílico entre 10° e 90° [72], [77]. No entanto, as células são mais propícias a aderir aos materiais quando a molhabilidade é moderada, isto é, quando o ângulo de contacto entre a gota e a superfície do material está compreendido entre 40° e 70° [77].

Os resultados obtidos através da análise dos ângulos de contacto dinâmicos dos adesivos sintetizados, ao longo do tempo são apresentados nas Figuras 3.14, 3.15 e 3.16.

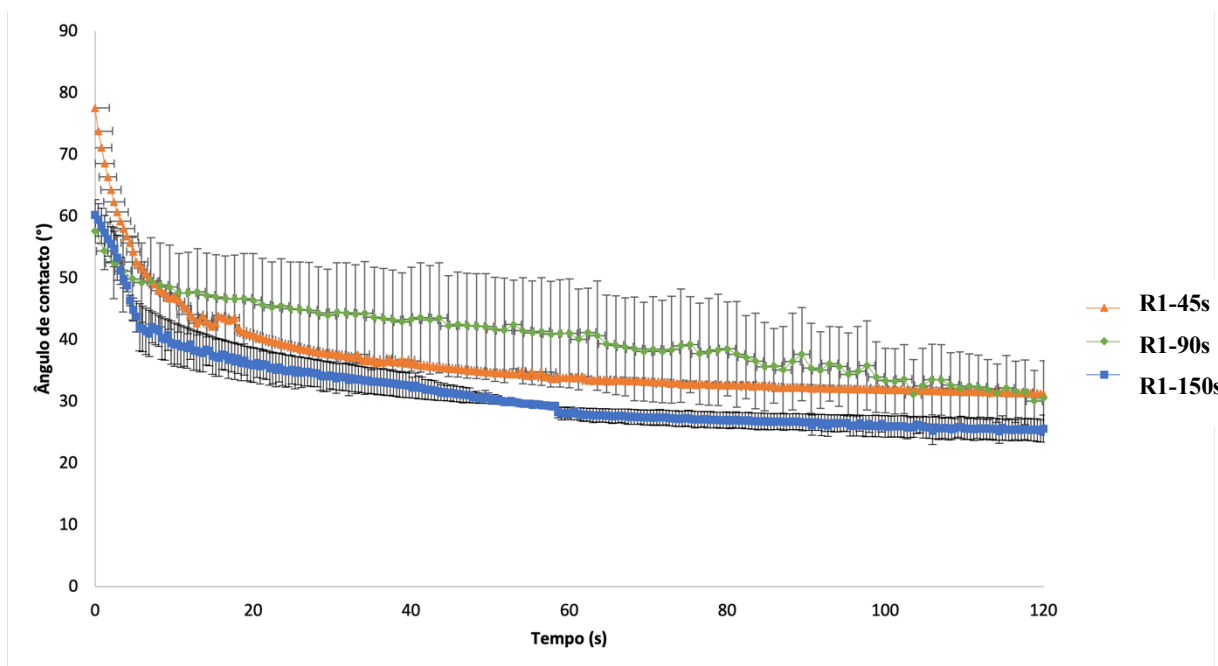


Figura 3.14 - Ângulo de contacto dinâmico do adesivo R1.

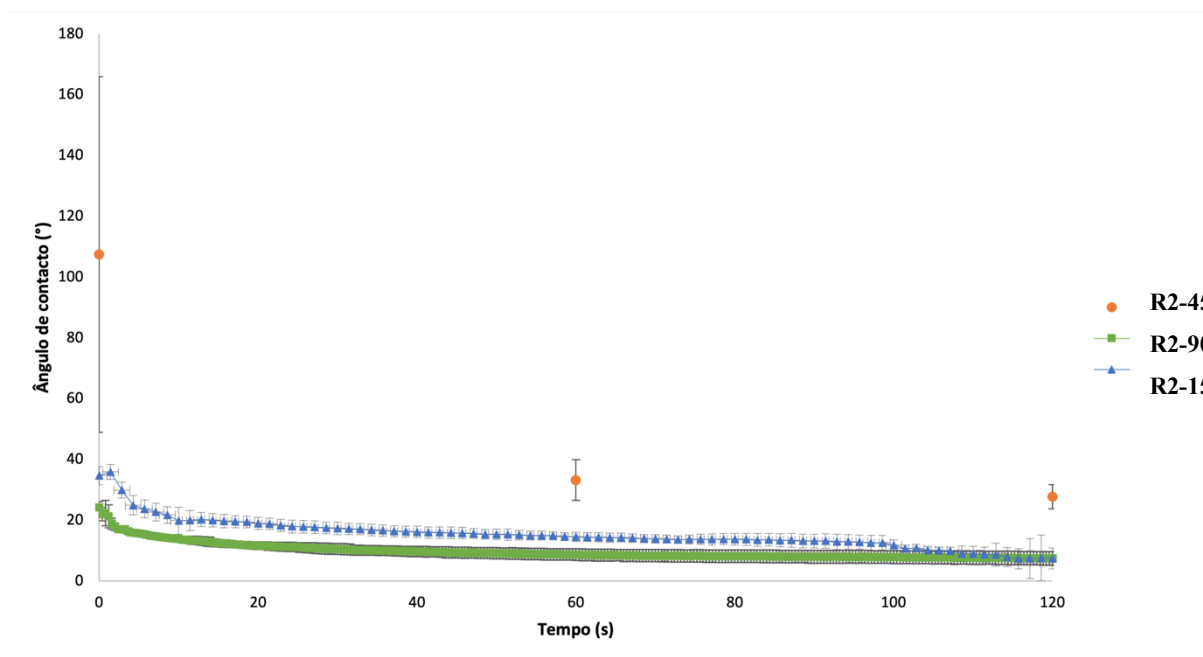


Figura 3.15 - Ângulo de contacto dinâmico do adesivo R2.

Através das Figuras 3.14, 3.15 e 3.16, é possível verificar que todos os adesivos produzidos apresentam um comportamento hidrofílico, tal como era espectável, uma vez que apresentam na sua constituição grupos funcionais como ésteres e grupos hidroxilo, que

## Resultados e Discussão

conferem caráter hidrofílico [72]. De notar que, nenhum dos adesivos apresenta molhabilidade total, ou seja, o ângulo de contacto toma um valor de zero.

Pela Figura 3.15, o adesivo R2-45s, foi aquele que apresentou um ângulo de contacto inicial mais elevado,  $107,46 \pm 58,53^\circ$ . No entanto, ao fim de 60 s, observa-se um espalhamento acentuado da gota de água no material, isto é, ao fim de 60 s, a gota de água destilada terá esbatido na superfície do adesivo, sendo absorvida por completo por este, apresentando um valor de ângulo de contacto final de  $27,76 \pm 4,03^\circ$ . Tal comportamento podia ser previsto, uma vez que este adesivo é aquele que apresenta maior capacidade de absorção de água.

De um modo geral, o perfil obtido para cada reação é muito semelhante para os tempos de reticulação (90 e 150 s), o que sugere que o tempo de irradiação UV não influencia a molhabilidade dos adesivos.

Através da Figura 3.14, os ângulos de contacto iniciais de R1-90s e R1-150s, tomam valores de cerca  $57^\circ$  e  $60^\circ$ , respetivamente, e para R2- 90s,  $24^\circ$ , e R2-150s,  $35^\circ$ . Nestes últimos, o valor do ângulo de contacto final é muito semelhante ao inicial. Estes resultados estão em concordância com os obtidos na capacidade de absorção de água, uma vez que estes adesivos foram também aqueles que atingiram valores mais elevados de absorção e, conseqüentemente, apresentaram um caráter mais hidrofílico. Estes resultados também estão de acordo com os resultados de degradação hidrolítica, uma vez que estes apresentaram elevada perda de massa, o que se deve também ao facto de estes materiais serem muito hidrofílicos.

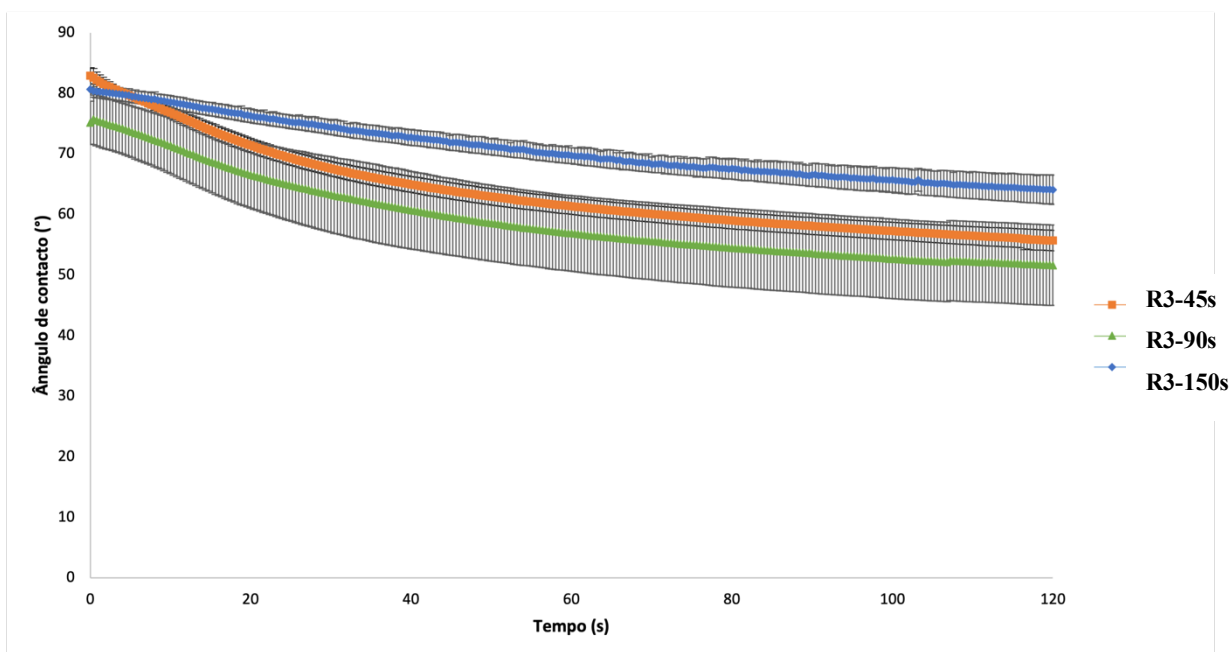


Figura 3.16 - Ângulo de contacto dinâmico do adesivo R3.

Através da Figura 3.16, representativa dos adesivos à base de 1,6-hexanodiol, R3, os valores de ângulos de contacto iniciais foram, de um modo geral, mais elevados, apresentando

um caráter pouco hidrofílico, dado que já se encontram perto do limite do valor de ângulo de contacto para materiais hidrofóbicos ( $>90^\circ$ ) [1], [72]. Estes resultados são concordantes com os obtidos na capacidade de absorção de água, uma vez que apresentaram percentagens de absorção menores, como também foram os apresentaram perdas de massa mais baixas.

No processo de cicatrização de feridas, materiais hidrofílicos são preferidos, uma vez que, são capazes de fornecer ambientes húmidos. Para além disso, proporcionam melhor proliferação, migração e regeneração celular, conforme referido anteriormente [72].

## 3.8 Biocompatibilidade

A avaliação da biocompatibilidade é de extrema importância, uma vez que permite avaliar o efeito do material em células, tecidos, órgãos ou seres vivos [78].

Desta forma, foi essencial realizar um estudo à biocompatibilidade *in vitro* dos adesivos sintetizados para determinar a sua viabilidade celular.

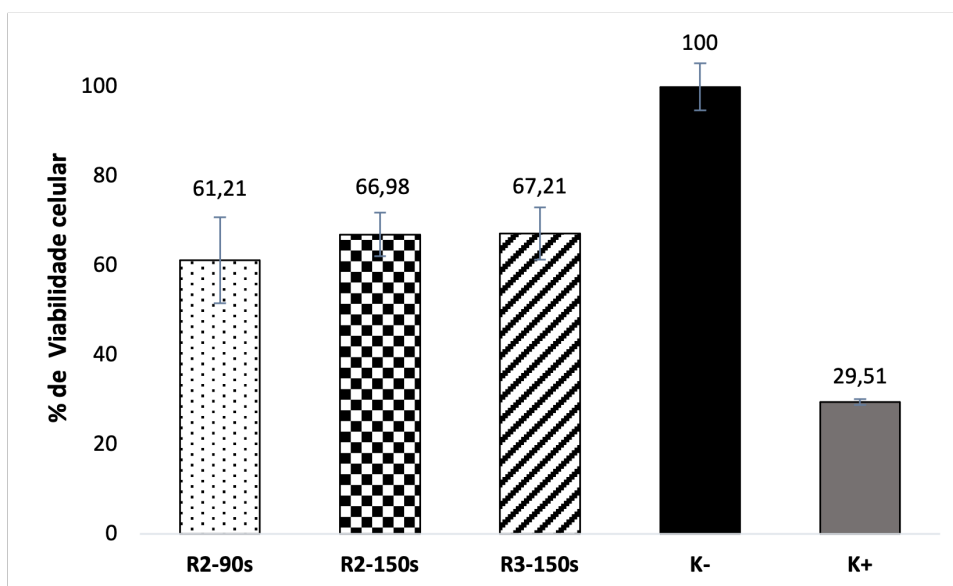
### 3.8.1 Estudo da viabilidade celular

Como mencionado na Secção 2.3.6.1, os estudos da viabilidade celular foram realizados na UBI, de forma a avaliar o comportamento das células de fibroblastos humanos na presença de adesivos. O estudo foi realizado para um período de incubação de 48 h, no qual as células viáveis transformam o MTS em *formazan*, dando origem a uma solução com enzimas mitocondriais, com uma coloração púrpura [79]. Assim, a viabilidade celular foi avaliada através da leitura da absorção da solução recolhida, na qual, o número de células viáveis é proporcional à quantidade de cristais *formazan* produzidos. Portanto, quanto maior o valor de absorvância obtido, maior o número de células viáveis [31].

Assim, foi possível estudar o perfil citotóxico dos adesivos sintetizados. No entanto, as amostras dos adesivos R1, R2-45s, R3-45s e R3-90s, mataram as células ao fim de 24 h no meio. Tal pode estar relacionado com a presença de material não reticulado e libertação de subprodutos de caráter ácido (dado que as reação apresentaram pH ácido, como é possível observar na Tabela E.1 do Anexo E) [31].

Desta forma, apenas foi possível obter resultados de viabilidade celular ao fim de 48 horas dos adesivos R2-90s, R2-150s e R3-150s, Figura 3.17.

## Resultados e Discussão



**Figura 3.17** - Avaliação da viabilidade celular após 48 h de contacto com os adesivos R2-90s, R2-150s e R3-150s. K<sup>-</sup>, controlo negativo e K<sup>+</sup>, controlo positivo.

De acordo com a Figura 3.17, observou-se que aquando do contacto entre as células de fibroblastos humanos e os adesivos, os materiais sintetizados apresentam valores de viabilidade celular entre 61,21 e 67,21 %. Como as percentagens de viabilidade celular dos adesivos foram inferiores a 70 %, estes encontram-se um pouco afastados do controlo negativo, K<sup>-</sup>, que corresponde a 100% de células viáveis.

Dos materiais apresentados, o adesivo R2-90s foi aquele que apresentou um pior desempenho com valores de viabilidade celular de aproximadamente 61 %.

Dado que os adesivos de R2 e R3 para tempo de reticulação de 150 s, apresentaram maior percentagem de viabilidade celular que para 90 s, e R3-90s matou as células, é possível referir que o fator que tem mais influencia no carácter citotóxico dos adesivos é o tempo de reticulação. De notar que, ao aumentar o tempo de reticulação, a % de viabilidade celular aumentou. A % de viabilidade celular é de  $66,98 \pm 4,90$  % e  $67,21 \pm 5,82$  % para R2-150s e R3-150s, respetivamente. Portanto, para um menor grau de reticulação, maior a taxa de degradação dos filmes e menor a % de viabilidade celular.

Para além disso, esta técnica também pode ser comparada com os resultados obtidos nos ângulos de contacto dinâmicos, uma vez que os adesivos R2-90s e R2-150s são aqueles que apresentam um comportamento mais hidrofílico. Como já mencionado, este carácter hidrofílico é preferido no processo de cicatrização de feridas, devido à capacidade de fornecerem ambientes húmidos e proporcionarem melhor proliferação, migração e regeneração celular, conforme referido anteriormente [72].

Por último, é possível concluir que os adesivos sintetizados apresentam valores relativamente promissores para a utilização destes materiais como adesivos cirúrgicos, uma vez

que para os tempos de reticulação estudados, todos os materiais apresentam valores de viabilidade celular próximos dos 70% [80]. Desta forma, seria necessário a repetição de testes à biocompatibilidade. O problema pode estar também associado aos próprios ensaios. Ainda assim, seria necessário aumentar o tempo de reticulação para obter valores de viabilidade celular superiores a 70 %, contudo, dada a aplicação biomédica dos adesivos, o aumento do tempo de reticulação pode não ser vantajoso.





## 4. Conclusões e Trabalhos futuros

### 4.1 Conclusões

A preparação de adesivos foto-reticuláveis foi realizada através da síntese de poliésteres insaturados, à base de ácido itacónico e etilenoglicol ou 1,6-hexanodiol, em diferentes proporções. Posteriormente, os materiais sintetizados foram foto-reticulados, à temperatura ambiente, por radiação UV e com recurso a um foto-iniciador, Irgacure® 2959, dando origem a matrizes poliméricas tridimensionais, ao fim de 45, 90 e 150 segundos de reticulação.

A fim de confirmar e validar a presença dos grupos funcionais presentes nos polímeros, utilizaram-se as técnicas de ATR-FTIR e <sup>1</sup>H RMN, nas quais foi possível verificar o excesso de diol em duas das reações, bem como a presença de ligações duplas C=C.

As caracterizações seguintes foram realizadas para os materiais foto-reticulados durante 45 s, 90 s e 150 s, das reações de etilenoglicol e ácido itacónico (1:1 e 2:1) e 1,6-hexanodiol e ácido itacónico (1:1). Assim, foram alvo de um processo de caracterização, de forma a avaliar o seu potencial enquanto adesivos cirúrgicos.

Determinou-se o teor de gel de todos os adesivos sintetizados, obtendo-se valores entre 38,62 a 94,32 %, sendo os adesivos R1-150s e R2-150s aqueles que apresentaram valores mais elevados. Também é de notar que, para o mesmo tempo de reticulação, as reações cujo diol se encontrava em excesso, apresentaram menores valores de teor de gel. Verificou-se que, um aumento do tempo de exposição à radiação UV, maior a percentagem de teor de gel, isto é, maior o grau de reticulação.

Relativamente à capacidade de absorção de água, os adesivos atingiram a capacidade máxima de absorção nas primeiras 24 ou 72 horas, com valores a variar entre 1,94-26,01 %, sendo que o adesivo R2-45s se mostrou inadequado para aplicação como adesivo cirúrgico, uma vez que apresentou valores superiores a 20 %. É de notar que para os adesivos de 45 s, estes são os que apresentam valores mais elevados de capacidade de absorção, face aos 90 s e 150 s. Para além disso, foi notório o facto dos adesivos com etilenoglicol em excesso, R2, apresentarem valores mais elevados de absorção de água e ainda valores mais baixos de ângulos de contacto, justificando assim o seu comportamento hidrofílico.

Todos os adesivos registaram uma perda de massa acentuada nos primeiros 7 dias. Apresentaram perdas de massa ao fim de 6 semanas de aproximadamente 5% a 67 %, sendo que os adesivos R2 foram aqueles que apresentaram valores mais elevados. Os adesivos à base de etilenoglicol em excesso foram aqueles que registaram maior perda de massa, uma vez que

apresentam menos carbonos na cadeia principal e, conseqüentemente, menor número de ligações para quebrar, degradando-se mais facilmente. Quanto maior o teor de gel, menor a perda de massa e menor capacidade de absorção de água e, conseqüentemente, mais hidrofóbico é o material.

Através dos ângulos de contacto dinâmicos, foi possível concluir que todos os adesivos à exceção do R2-45s apresentaram um comportamento hidrofílico. Para além disso, os adesivos à base de 1,6-hexanodiol, R3, foram aqueles que apresentaram valores iniciais de ângulos de contacto dinâmicos mais elevados, apresentando um comportamento menos hidrofílico. Estes resultados puderam ser comparados com as % de capacidade de absorção, que para estes adesivos foram os que apresentaram valores mais baixos.

Por último, estudou-se a biocompatibilidade dos adesivos produzidos, por análise da viabilidade celular. Concluiu-se que nenhum dos adesivos apresentava percentagens elevadas de viabilidade celular, contudo, com um aumento do tempo de reticulação fez-se notar um aumento da mesma. No entanto, algumas dúvidas subsistem quanto à validade dos resultados, podendo os mesmos serem devidos a problemas nos próprios ensaios de biocompatibilidade.

Por fim, e dado todos os resultados obtidos, pode-se afirmar que apesar de alguns dos adesivos cirúrgicos foto-reticuláveis desenvolvidos a partir de ácido itacónico e etilenoglicol ou 1,6-hexanodiol, poderem ter um lugar no mercado dos bioadesivos, é necessário uma melhoria nos resultados de viabilidade celular. Tal pode ser possível através de um controlo de pH e, no caso de apresentar carácter ácido, proceder à sua neutralização. Assim, é possível afirmar que estes materiais precisam de estudos de longo prazo, no entanto, este trabalho apresenta um bom ponto de partida da produção de poliésteres insaturados para aplicação biomédica.

## 4.2 Perspetivas futuras

Para complementar alguns estudos realizados neste trabalho, bem como o seu aprofundamento, são sugeridos alguns tópicos a desenvolver no futuro:

1. **Utilização de catalisadores:** Testar a influência do uso de catalisadores, de forma a acelerar as reações;
2. **Estudo comparativo de poliésteres insaturados sintetizados:** Testar a influência através da utilização de outro diácido, por exemplo, ácido fumárico; testar a influência através do uso de um outro diol (por exemplo, 1,3-propanodiol);

3. **Estudo da água proveniente da reação nos adesivos:** aprofundar o estudo comparativo da água proveniente da reação que com os resultados obtidos nas secagens das diversas caracterizações;
4. **Otimização do processo de reticulação:** Estudar tempos de foto-reticulação superiores (>2,30 minutos);
5. **Otimização da quantidade de fotoiniciador a utilizar:** Estudar a influência de diferentes quantidades de fotoiniciador (2% e 6%);
6. **Avaliação da influência da espessura dos adesivos sintetizados:** Repetir os testes de caracterização com adesivos de diferentes espessuras;
7. **Caracterização mais aprofundada dos materiais sintetizados:** Análise térmica dinâmico-mecânica e determinação da temperatura vítrea, testes de avaliação da adesão a tecido biológicos através energias de superfície, pela determinação dos ângulos de contacto estáticos;
8. **Otimização do processo para a capacidade de absorção de água:** Testar o uso de outro tipo de material onde se colocam adesivos no exsiccador sob atmosfera saturada, testando a sua influência no peso do mesmo ao longo de 6 semanas; Avaliação da variação do volume das amostras;
9. **Repetição dos estudos de biocompatibilidade:** Realizar uma nova avaliação da biocompatibilidade dos adesivos e realizar estudos de atividade bacteriana.



## 5. Referências

- [1] M. Santos *et al.*, “Polyester-based photocrosslinkable bioadhesives for wound closure and tissue regeneration support,” *React. Funct. Polym.*, vol. 158, no. December 2020, p. 104798, 2021.
- [2] M. Mehdizadeh and J. Yang, “Design Strategies and Applications of Tissue Bioadhesives,” *Macromol. Biosci.*, vol. 13, no. 3, pp. 271–288, 2013.
- [3] K. Ono *et al.*, “Experimental evaluation of photocrosslinkable chitosan as a biologic adhesive with surgical applications,” *Surgery*, vol. 130, no. 5, pp. 844–850, 2001.
- [4] B. Guo and P. X. Ma, “Synthetic biodegradable functional polymers for tissue engineering: A brief review,” *Sci. China Chem.*, vol. 57, no. 4, pp. 490–500, 2014.
- [5] P. Taylor, S. Bhat, and A. Kumar, “Biomaterials and bioengineering tomorrow ’ s healthcare,” *Biomatter*, no. January 2015, pp. 37–41, 2013.
- [6] R. S. Benson, “Use of radiation in biomaterials science,” *Nim B Beam Interact. with Mater. Atoms*, vol. 191, pp. 752–757, 2002.
- [7] S. Suzuki and Y. Ikada, *Biomaterials for Surgical Operation*. 2012.
- [8] R. Bitton, E. Josef, I. Shimshelashvili, K. Shapira, D. Seliktar, and H. Bianco-Peled, “Phloroglucinol-based biomimetic adhesives for medical applications,” *Acta Biomater.*, vol. 5, no. 5, pp. 1582–1587, 2009.
- [9] A. L. Tajirian and D. J. Goldberg, “A review of sutures and other skin closure materials,” *J. Cosmet. Laser Ther. ISSN*, vol. 4172, pp. 296–302, 2010.
- [10] F. Scognamiglio *et al.*, “Adhesive and sealant interfaces for general surgery applications,” *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, vol. 104, no. 3. pp. 626–639, 2016.
- [11] J. D. Lloyd, M. J. M. Iii, and R. F. Kacprowicz, “Closure Techniques,” *Emerg. Med. Clin. North Am.*, vol. 25, no. 2007, pp. 73–81, 2021.
- [12] P. Ferreira, J. F. J. Coelho, J. F. Almeida, and M. H. Gil, “Photocrosslinkable Polymers for Biomedical Applications,” in *Intech*, vol. i, no. tourism, 2016, pp. 56–73.
- [13] T. Cernadas *et al.*, “Functionalized polyester-based materials as UV curable adhesives,” *Eur. Polym. J.*, vol. 120, no. June, p. 109196, 2019.
- [14] J. M. C. Santos *et al.*, “Engineering star-shaped lactic acid oligomers to develop novel functional adhesives,” *J. Mater. Res.*, vol. 33, no. 10, pp. 1463–1474, 2018.
- [15] C. G. Williams, A. N. Malik, T. K. Kim, P. N. Manson, and J. H. Elisseeff, “Variable

- cytocompatibility of six cell lines with photoinitiators used for polymerizing hydrogels and cell encapsulation,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 11, pp. 1211–1218, 2005.
- [16] J. C. Wheat and J. S. Wolf, “Advances in Bioadhesives, Tissue Sealants, and Hemostatic Agents,” *Urologic Clinics of North America*, vol. 36, no. 2. Elsevier Ltd, pp. 265–275, 2009.
- [17] A. P. Duarte, J. F. Coelho, J. C. Bordado, M. T. Cidade, and M. H. Gil, “Surgical adhesives: Systematic review of the main types and development forecast,” *Progress in Polymer Science*, vol. 37, no. 8. Elsevier Ltd, pp. 1031–1050, 2012.
- [18] P. Ferreira, J. F. J. Coelho, and M. H. Gil, “Development of a new photocrosslinkable biodegradable bioadhesive,” *Int. J. Pharm.*, vol. 352, no. 1–2, pp. 172–181, 2008.
- [19] V. Bhagat and M. L. Becker, “Degradable Adhesives for Surgery and Tissue Engineering,” *Biomacromolecules*, vol. 18, no. 10, pp. 3009–3039, 2017.
- [20] T. Cernadas *et al.*, “Preparation of functionalized poly(caprolactone diol)/castor oils blends to be applied as photocrosslinkable tissue adhesives,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 137, no. 37, pp. 1–14, 2020.
- [21] E. M. Petrie, “Cyanoacrylate Adhesives in Surgical Applications,” *Prog. Adhes. Adhes.*, pp. 245–298, 2015.
- [22] P. J. M. Bouten *et al.*, “The chemistry of tissue adhesive materials,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 39, no. 7, pp. 1375–1405, 2014.
- [23] T. B. Reece, T. S. Maxey, and I. L. Kron, “A prospectus on tissue adhesives,” *Am. J. Surg.*, vol. 182, no. 2 SUPPL. 1, pp. S40–S44, 2001.
- [24] M. R. Jackson, “Fibrin sealants in surgical practice: An overview,” *Am. J. Surg.*, vol. 182, no. 2 SUPPL. 1, 2001.
- [25] G. Ak, E. A. Başkirt, E. Kürklü, M. Koray, H. Tanyeri, and B. Zülfikar, “The evaluation of fibrin sealants and tissue adhesives in oral surgery among patients with bleeding disorders,” *Turkish J. Hematol.*, vol. 29, no. 1, pp. 40–47, 2012.
- [26] K. A. Bresnahan, J. M. Howell, and J. Wizorek, “Comparison of Tensile Strength of Cyanoacrylate Tissue Adhesive Closure of Lacerations Versus Suture Closure,” *Ann. Emerg. Med.*, vol. 26, no. 5, pp. 575–578, 1995.
- [27] D. S. Marques *et al.*, “Photocurable bioadhesive based on lactic acid,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 58, pp. 601–609, 2016.
- [28] I. Vroman and L. Tighzert, “Biodegradable polymers,” *Materials (Basel)*, vol. 2, no. 2, pp. 307–344, 2009.
- [29] T. M. Cernadas *et al.*, “Preparation of biodegradable functionalized polyesters aimed to be used as surgical adhesives,” *Eur. Polym. J.*, vol. 117, no. March, pp. 442–454, 2019.

- [30] F. A. M. M. Gonçalves, A. C. Fonseca, M. Domingos, A. Gloria, A. C. Serra, and J. F. J. Coelho, "The potential of unsaturated polyesters in biomedicine and tissue engineering: Synthesis, structure-properties relationships and additive manufacturing," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 68, pp. 1–34, 2017.
- [31] D. S. Marques *et al.*, "Functionalization and photocuring of an L-lactic acid macromer for biomedical applications," *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, vol. 65, no. 10, pp. 497–507, 2016.
- [32] J. M. C. Santos *et al.*, "Synthesis, functionalization and characterization of UV-curable lactic acid based oligomers to be used as surgical adhesives," *React. Funct. Polym.*, vol. 94, pp. 43–54, 2015.
- [33] Z. Yang, H. Peng, W. Wang, and T. Liu, "Crystallization behavior of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 116, no. 5, pp. 2658–2667, 2010.
- [34] A. Pizzi, "Unsaturated Polyester Adhesives," *Handb. Adhes. Technol. Revis. Expand.*, no. January, 2003.
- [35] A. C. Fonseca, I. M. Lopes, J. F. J. Coelho, and A. C. Serra, "Synthesis of unsaturated polyesters based on renewable monomers: Structure/properties relationship and crosslinking with 2-hydroxyethyl methacrylate," *React. Funct. Polym.*, vol. 97, pp. 1–11, 2015.
- [36] S. Matsumura *et al.*, "Stability and Utility of Pyridyl Disulfide Functionality in RAFT and Conventional Radical Polymerizations," *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.*, vol. 46, no. April, pp. 7207–7224, 2008.
- [37] T. J. Farmer, J. H. Clark, D. J. Macquarrie, J. K. Ogunjobi, and R. L. Castle, "Post-polymerisation modification of bio-derived unsaturated polyester resins via Michael additions of 1,3-dicarbonyls," *Polym. Chem.*, vol. 7, no. 8, pp. 1650–1658, 2016.
- [38] M. Lopes, "DEVELOPMENT OF UNSATURATED POLYESTERS FROM RENEWABLE SOURCES," FCTUC, 2013.
- [39] Z. H. Dai *et al.*, "Fully Biobased Composites of an Itaconic Acid Derived Unsaturated Polyester Reinforced with Cotton Fabrics," *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 6, no. 11, pp. 15056–15063, 2018.
- [40] P. B. Bamane, K. K. Wadgaonkar, S. U. Chambhare, L. B. Mehta, and R. N. Jagtap, "Replacement of traditional unsaturated acid by bio-based itaconic acid in the preparation of isophthalic acid-based unsaturated polyester resin," *Prog. Org. Coatings*, vol. 147, no. November 2019, p. 105743, 2020.
- [41] C. G. Gebelein, "Biological Activities of Polymers," *Symp. A Q. J. Mod. Foreign Lit.*,

1982.

- [42] S. J. Lee, J. J. Yoo, and A. Atala, *In Situ Tissue Regeneration: Host Cell Recruitment and Biomaterial Design*. 2016.
- [43] J. Gowsika and R. Nanthini, “Synthesis, characterization and in vitro anticancer evaluation of itaconic acid based random copolyester,” *J. Chem.*, vol. 2014, 2014.
- [44] T. Matynia, M. Worzakowska, and W. Tarnawski, “Synthesis of unsaturated polyesters of increased solubility in styrene,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 101, no. 5, pp. 3143–3150, 2006.
- [45] T. J. Farmer, R. L. Castle, J. H. Clark, and D. J. Macquarrie, “Synthesis of unsaturated polyester resins from various bio-derived platform molecules,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 16, no. 7, pp. 14912–14932, 2015.
- [46] P. A. Gunatillake, R. Adhikari, and N. Gadegaard, “Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering,” *Eur. Cells Mater.*, vol. 5, pp. 1–16, 2003.
- [47] I. Schoon, M. Kluge, S. Eschig, and T. Robert, “Catalyst influence on undesired side reactions in the polycondensation of fully bio-based polyester itaconates,” *Polymers (Basel)*, vol. 9, no. 12, 2017.
- [48] S. Brännström, E. Malmström, and M. Johansson, “Biobased UV-curable coatings based on itaconic acid,” *J. Coatings Technol. Res.*, vol. 14, no. 4, pp. 851–861, 2017.
- [49] بررسی فلور و پراکنش جغرافیایی گیاهان در ارتباط با اقلیم در مراتع، “No Title مراتع در اقلیم با اقلیم در ارتباط با اقلیم در مراتع،” *س. ن. ع. س. و. ح. بارانی*, منطقه ایرانشهر استان، vol. 148, pp. 148–162.
- [50] A. I. Magalhães, J. C. de Carvalho, J. D. C. Medina, and C. R. Soccol, “Downstream process development in biotechnological itaconic acid manufacturing,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 101, no. 1, pp. 1–12, 2017.
- [51] E. Ayres, C. R. Ferreira, T. H. Lima, G. S. Martins, J. C. O. Villanova, and R. L. Oréfice, “Self-crosslinkable complexes based on poly(ethylene glycol) (PEG), poly(itaconic acid) (PIA) and N-methylol acrylamide (NMA) as pharmaceutical hydrophilic matrices,” *Polym. Bull.*, vol. 73, no. 1, pp. 75–95, 2016.
- [52] J. Cunha da Cruz, A. Machado de Castro, and E. F. Camporese Sérvulo, “World market and biotechnological production of itaconic acid,” *3 Biotech*, vol. 8, no. 3, pp. 1–15, 2018.
- [53] B. E. Teleky and D. C. Vodnar, “Biomass-derived production of itaconic acid as a building block in specialty polymers,” *Polymers (Basel)*, vol. 11, no. 6, 2019.
- [54] T. Willke and K. D. Vorlop, “Biotechnological production of itaconic acid,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 56, no. 3–4, pp. 289–295, 2001.
- [55] M. Okabe, D. Lies, S. Kanamasa, and E. Y. Park, “Biotechnological production of



- itaconic acid and its biosynthesis in *Aspergillus terreus*,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 84, no. 4, pp. 597–606, 2009.
- [56] J. Dai *et al.*, “Polyesters derived from itaconic acid for the properties and bio-based content enhancement of soybean oil-based thermosets,” *Green Chem.*, vol. 17, no. 4, pp. 2383–2392, 2015.
- [57] D. G. Barrett, T. J. Merkel, J. C. Luft, and M. N. Yousaf, “One-step syntheses of photocurable polyesters based on a renewable resource,” *Macromolecules*, vol. 43, no. 23, pp. 9660–9667, 2010.
- [58] B. Guo *et al.*, “Biobased poly(propylene sebacate) as shape memory polymer with tunable switching temperature for potential biomedical applications,” *Biomacromolecules*, vol. 12, no. 4, pp. 1312–1321, 2011.
- [59] M. Singh, R. Rathi, A. Singh, J. Heller, G. P. Talwar, and J. Kopecek, “Controlled release of LHRH-DT from bioerodible hydrogel microspheres,” *Int. J. Pharm.*, vol. 76, no. 3, 1991.
- [60] L. B. Mehta, K. K. Wadgaonkar, and R. N. Jagtap, “Synthesis and characterization of high bio-based content unsaturated polyester resin for wood coating from itaconic acid: Effect of various reactive diluents as an alternative to styrene,” *J. Dispers. Sci. Technol.*, vol. 40, no. 5, pp. 756–765, 2019.
- [61] P. M. Pereira, “O TIMIZAÇÃO DE SÍNTESE DE POLIÉSTERES,” p. 21, 2021.
- [62] T. Durak and J. Depciuch, “Effect of plant sample preparation and measuring methods on ATR-FTIR spectra results,” *Environ. Exp. Bot.*, vol. 169, p. 103915, 2020.
- [63] B. H. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. 2005.
- [64] T. Robert and S. Friebel, “Itaconic acid-a versatile building block for renewable polyesters with enhanced functionality,” *Green Chem.*, vol. 18, no. 10, pp. 2922–2934, 2016.
- [65] Coherent Market Insights, “Pharmaceutical Solvents Market, By Chemical Type (Alcohols (Ethanol, Isopropanol, Propanol, Propylene Glycol), Amines (Aniline, Diphenylamine, Methyl ethanolamine, Trimethylamine), Ester (Acetyl Acetate, Ethyl Acetate, Butyl Acetate). Ether (Diethyl Ether.” [Online]. Available: <https://www.marketresearch.com/Coherent-Market-Insights-v4137/Pharmaceutical-Solvents-Chemical-Type-Alcohols-13401761/>. [Accessed: 04-Oct-2021].
- [66] A. BioMatrix, “Irgacure.” [Online]. Available: <https://advancedbiomatrix.com/irgacure.html>. [Accessed: 20-Sep-2021].
- [67] J. Coates, “Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach,” *Encycl. Anal. Chem.*, pp. 1–23, 2006.

- [68] C. S. Wannere and P. V. R. Schleyer, "How do ring currents affect  $^1\text{H}$  NMR chemical shifts?," *Org. Lett.*, vol. 5, no. 5, pp. 605–608, 2003.
- [69] G. R. Fulmer *et al.*, "NMR chemical shifts of trace impurities: Common laboratory solvents, organics, and gases in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist," *Organometallics*, vol. 29, no. 9, pp. 2176–2179, 2010.
- [70] J. M. C. Santos *et al.*, "Synthesis, functionalization and characterization of UV-curable lactic acid based oligomers to be used as surgical adhesives," *React. Funct. Polym.*, vol. 94, pp. 43–54, 2015.
- [71] J. F. Almeida, P. Ferreira, A. Lopes, and M. H. Gil, "Photocrosslinkable biodegradable responsive hydrogels as drug delivery systems," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 49, no. 5, pp. 948–954, 2011.
- [72] S. P. Miguel, M. P. Ribeiro, P. Coutinho, and I. J. Correia, "Electrospun polycaprolactone/Aloe Vera\_chitosan nanofibrous asymmetric membranes aimed for wound healing applications," *Polymers (Basel)*, vol. 9, no. 5, 2017.
- [73] W. Zhu, Y. J. Chuah, and D. A. Wang, "Bioadhesives for internal medical applications: A review," *Acta Biomater.*, vol. 74, pp. 1–16, 2018.
- [74] A. Bal-Ozturk *et al.*, "Tissue adhesives: From research to clinical translation," *Nano Today*, vol. 36, p. 101049, 2021.
- [75] T. Cernadas, M. Santos, S. P. Miguel, I. J. Correia, P. Alves, and P. Ferreira, "Photocurable polymeric blends for surgical application," *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 24, pp. 1–16, 2020.
- [76] H. K. Makadia and S. J. Siegel, "Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier," *Polymers (Basel)*, vol. 3, no. 3, pp. 1377–1397, 2011.
- [77] S. P. Miguel, M. P. Ribeiro, H. Brancal, P. Coutinho, and I. J. Correia, "Thermoresponsive chitosan-agarose hydrogel for skin regeneration," *Carbohydr. Polym.*, vol. 111, pp. 366–373, 2014.
- [78] Li and J. Yan, *Related Titles Bio-Nanomaterials Designing Materials Inspired by Nature Biomimetic, Bioresponsive, and Bioactive Materials An Introduction to Integrating Materials with Tissues Biomimetic Approaches for Biomaterials Development Molecular Assembly of Biomi.* 2013.
- [79] P. Alves, R. Cardoso, T. R. Correia, B. P. Antunes, I. J. Correia, and P. Ferreira, "Surface modification of polyurethane films by plasma and ultraviolet light to improve haemocompatibility for artificial heart valves," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 113, pp. 25–32, 2014.
- [80] A. Koutroulis, S. A. Kuehne, P. R. Cooper, and J. Camilleri, "The role of calcium ion

release on biocompatibility and antimicrobial properties of hydraulic cements,” *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–10, 2019.



## 6. Anexos

### Anexo A. Tipos de Irgacure

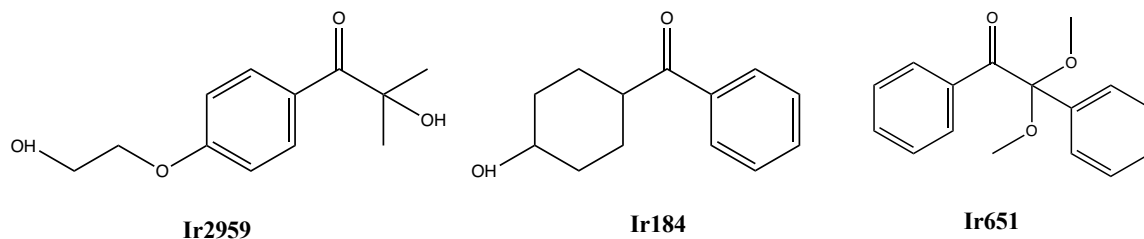


Figura A. 1 - Estrutura química dos diferentes tipos de Irgacure

### Anexo B. Propriedades do Ácido itacônico

Tabela B. 1 - Propriedades físico-químicas do ácido itacônico.

Nome IUPAC	Ácido 2-metilidenebutanodioico
Sinónimos	Ácido itacônico; Ácido 2-metilenossuccínico; ácido metilelesuccínico; ácido propilenodicarboxílico; ácido metilenobutanodioico
Abreviação	IA
Número CAS	97-65-4
Fórmula molecular	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>
Massa molar (g.mol <sup>-1</sup> )	130,099
Temperatura de fusão(°C)	165-168
Aparência(cor)	Branco
Aparência (forma)	Em pó ou cristais
Densidade (g.cm <sup>-3</sup> )	1,63
Solubilidade em água (g/100 mL, 20°C)	8,31
Acidez	pKa1=3,84 pka2=5,55

### Anexo C. Estruturas e propriedades químicas dos reagentes utilizados

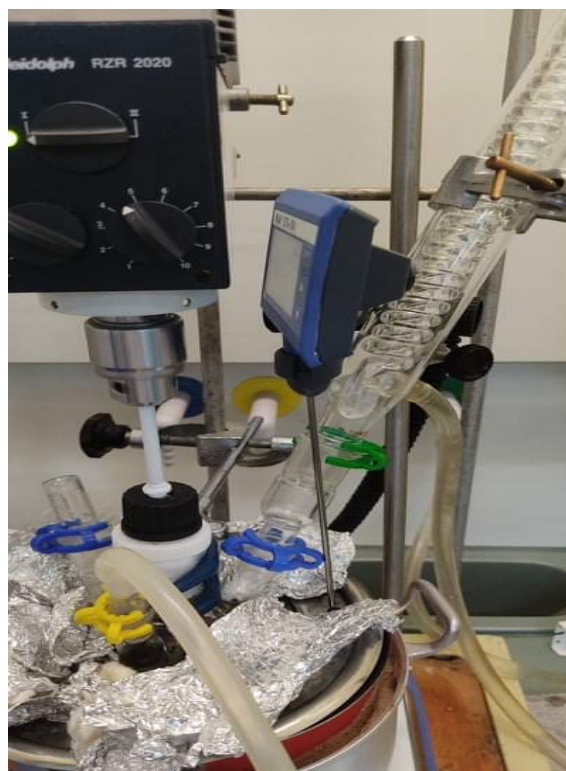
Tabela C. 1 - Estrutura e fórmula química, peso molecular (M), temperatura de fusão (Tf), temperatura de ebulição (Teb) e massa volúmica ( $\rho$ ) do Éter dietílico e do Irgacure 2959.

Estrutura química	Fórmula química	M (g.mol <sup>-1</sup> )	Tf (°C)	Teb (°C)	$\rho$ (kg.m <sup>-3</sup> )
	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	74,12	-116	34,6	0,71
	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	224,3	86,5-89,5	405	1,183

## Anexo D. Esquema reacional para a síntese de poliésteres insaturados



a)



b)

**Figura D. 1** - Esquema da montagem experimental para a síntese dos poliésteres insaturados para reações a) sem refluxo de solvente; b) com refluxo de solvente.

## Anexo E. Resultados obtidos de valor ácido

O valor ácido (VA) corresponde aos miligramas de KOH necessários para neutralizar um grama de um substância química. É possível, através da determinação deste parâmetro, verificar o término da reação. Assim, a síntese dos PIs seguiu o procedimento experimental apresentado na Secção 2.2.1.1 , sendo que para cada reação se determinou o VA da mistura, até este se encontrar entre os 25 e 50 mg KOH/g.

A Tabela E.1 apresenta as informações relativas às sínteses dos PIs. A Figura E.1 permite avaliar a reação, através do VA, em função do tempo.

Tabela E. 1 - Resultados obtidos na síntese de R1, R2, R3 e R4.

Formulação	Dia	Titulação n°	Hora	t (h)	VA	pH
R4	6/04	1	8h30	13	30,47	6
		2	8h45	13,33	29,62	
R2	27/04	1	8h30	12,67	51,93	6
		2	8h45	13,08	48,75	
		3	9h00	13,33	48,72	
R3	19/05	1	8h35	13,08	78,23	6
		2	9h35	14,08	69,31	
		3	10h35	15,08	59,09	
		4	11h15	15,75	51,06	
		5	11h40	16,17	45,17	
R1	01/06	1	8h40	15	150,35	6
		2	10h40	17	120,30	
		3	12h10	18,5	71,14	
		4	12h40	19	43,62	

De notar que, todas as reação apresentaram um caráter ácido.

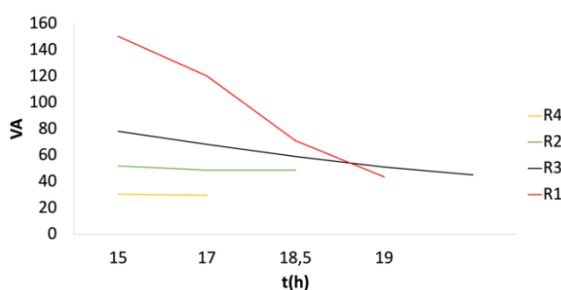


Figura E. 1 - Representação gráfica de VA em função do tempo, correspondentes à síntese de R1, R2, R3 e R4.

## Anexo F. Análise de $^1\text{H}$ RMN

De forma a confirmar, validar e justificar as análises realizadas, torna-se relevante analisar os espectros de  $^1\text{H}$  RMN referentes aos três reagentes utilizados ao longo deste trabalho. Nas Figuras F.1, F.2 e F.3 estão representados os espectros de  $^1\text{H}$  RMN do ácido itacônico, etilenoglicol e 1,6-hexanodiol, respetivamente.

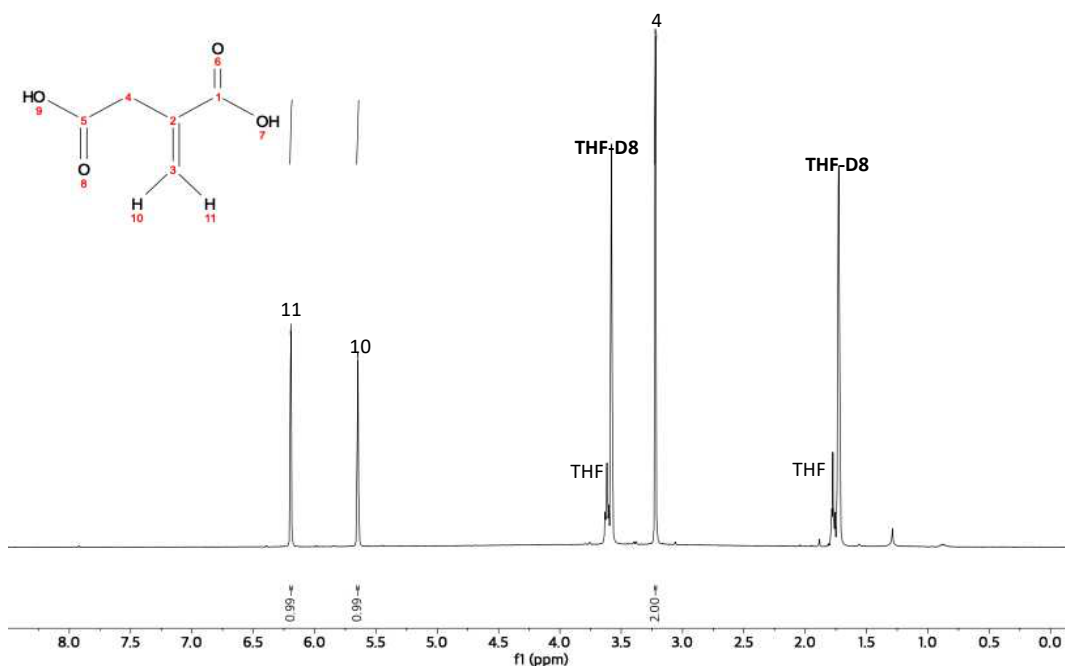


Figura F. 1 – Espectro de  $^1\text{H}$  RMN referente ao ácido itacônico.

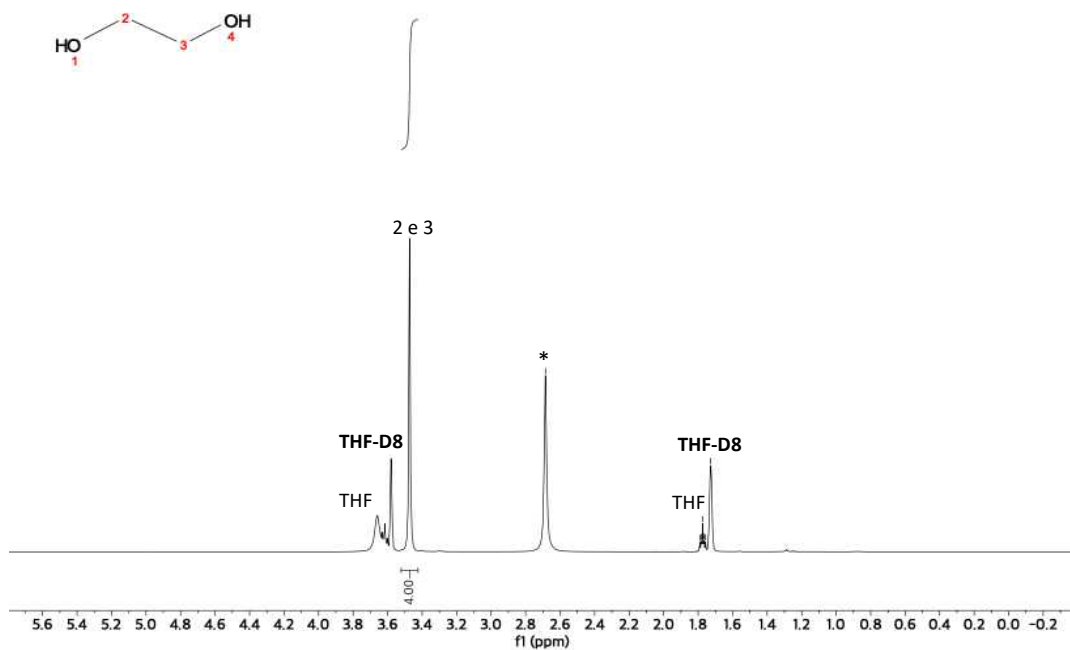
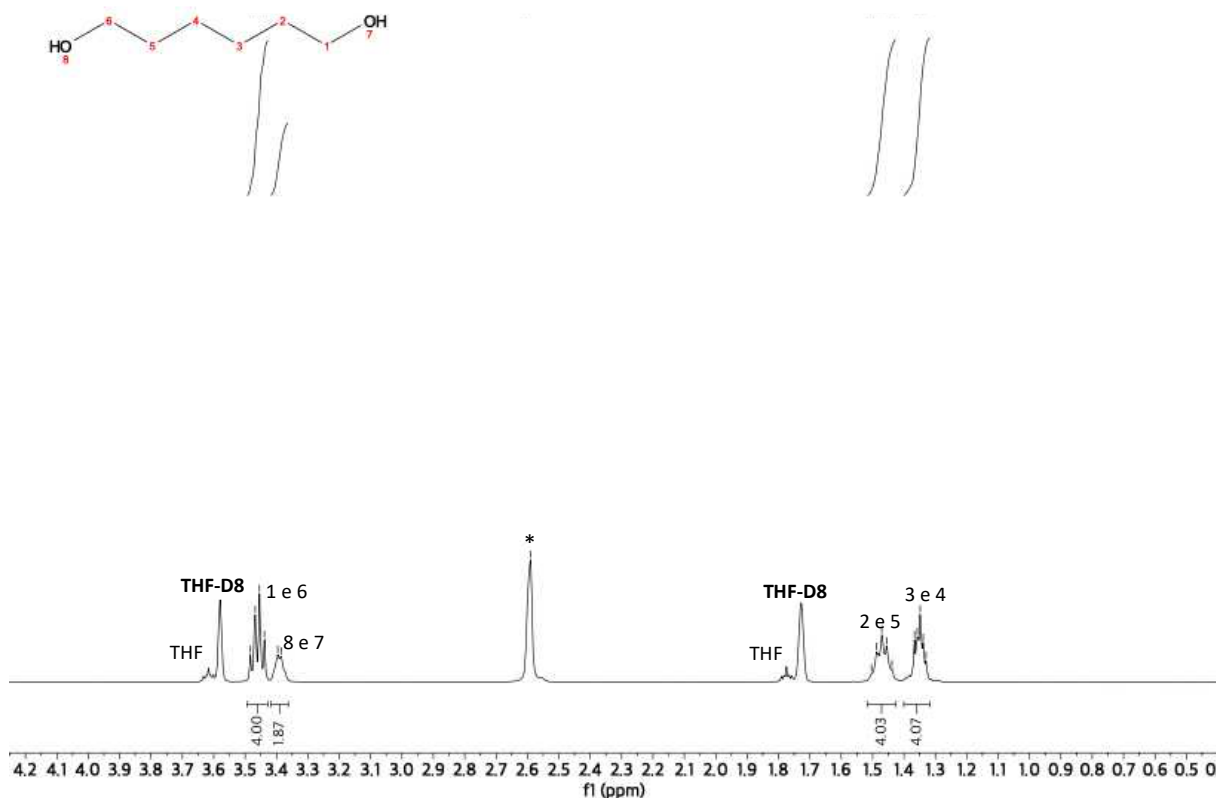


Figura F. 2 – Espectro de  $^1\text{H}$  RMN referente ao etilenoglicol.





**Figura F. 3** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN referente ao 1,6-hexanodiol.

Nas Figuras F.1, F.2 e F.3 é possível observar os picos de THF-D8 espectáveis em  $\delta=3,58$  ppm e  $\delta=1,73$  ppm, uma vez que todos os reagentes foram solubilizados neste solvente.

No espectro relativo ao ácido itacónico, Figura F.1, estão presentes dois picos relativos à ligação dupla,  $\text{C}=\text{C}$ , uma vez que estes dois prótons apresentam desvios químicos diferentes,  $\delta=6,19$  ppm e  $\delta=5,65$  ppm, (11) e (10), respetivamente. É também observável o pico correspondente aos prótons do grupo  $\text{CH}_2$ , (4), situado a  $\delta=3,22$  ppm.

Na Figura F.2, relativa ao etilenoglicol, os prótons das ligações  $-\text{CH}_2$ , (2) e (3), apresentam apenas um pico, uma vez que a molécula é simétrica, pelo que apresentam o mesmo desvio químico, 3,47 ppm.

No espectro do 1,6-hexanodiol, Figura F.3, para além, dos picos espectáveis referentes aos prótons das ligações  $-\text{OH}$  e  $-\text{CH}_2$ .

Nos espectros das Figuras F.2 e F.3 está presente um pico referente à água.