UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

LEONARDO ALMEIDA BARIZON

Síntese de materiais poliméricos contendo moléculas bioativas e materiais de fontes renováveis via catálise enzimática

Versão Corrigida da Dissertação Defendida

São Paulo
Data do Depósito na SPG:
28/02/2013

LEONARDO ALMEIDA BARIZON

Síntese de materiais poliméricos contendo moléculas bioativas e materiais de fontes renováveis via catálise enzimática

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Química (Química Orgânica)

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Catalani

São Paulo
2013

Leonardo Almeida Barizon

Síntese de materiais poliméricos contendo moléculas bioativas e materiais de fontes renováveis via catálise enzimática

Dissertação apresentada ao Instituto de Química

Da Universidade de São Paulo para obtenção do

Título de Mestre em

Química (Química Orgânica)

Aprovado em: 14/05/2013

Banca Examinadora

Prof. Dr._____

Instituição:_____

Assinatura:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____

Assinatura:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____

Assinatura:_____

Agradecimentos

Às agências de fomento à pesquisa, CNPq, pela bolsa de estudos, FAPESP e CAPES pelo auxílio financeiro indireto.

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Catalani, pela oportunidade de desenvolvimento do projeto em seu grupo de pesquisa.

Aos colegas de laboratório, Ricardo, Luiz, Mariana, Renata, Daniel A., Daniel M., Flavia, Romeu, Alliny, Silvia, e sobretudo a Vânia pela ajudar no início de minhas pesquisas no laboratório.

À Dra. Isaura Toma, pela execução de ensaios de MALDI-ToF.

Ao Prof. Dr. Josef Baader, por empréstimos de reagentes e vidrarias.

Ao Prof. Dr. João Comasseto, assim como aos seus alunos, pela realização de analises de CG-MS, o uso da mufla e do equipamento de medida de ponto de fusão.

Aos professores que ministraram as disciplinas de pós-graduação.

Aos funcionários do IQUSP, especialmente a Cibele da secretaria de pós-graduação.

Ao pró-reitor de pós-graduação Prof. Dr. Vahan Agopyan, pela atenção e receptividade.

Ao amigo Dr. Anderson Garbuglio por auxiliar em minha estadia na cidade de São Paulo.

E ao mais importante, minha família: Lívia, Cassia, Zeca, Bárbara, Gael, Jasmin, Cacau. E Deus.

Resumo

Barizon, L. A. **Síntese de materiais poliméricos contendo moléculas bioativas e materiais de fontes renováveis via catálise enzimática.** 2013. 102p. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo

Desde a invenção do primeiro polímero sintético por John Wesley em 1868, vem crescendo continuamente a utilização desta classe de materiais. Atualmente, é grande o interesse em agregar aos mesmos atributos mais nobres, tais como sua utilização em dispositivos biológicos, qualidade de rápida degradação e, mais recentemente, a preferência por aqueles provenientes de matéria prima renovável, que possam diminuir o impacto ambiental gerado pelo uso de petróleo e derivados.

O objetivo deste trabalho é sintetizar materiais provenientes de fonte de matéria prima renovável e de fácil degradação, através de sínteses enzimáticas, evitando assim o uso de catalisadores metálicos tóxicos. Além disso, pretendeu-se agregar moléculas biologicamente ativas, de forma que os produtos finais possam exibir propriedades farmacológicas. As substâncias bioativas selecionadas para este trabalho foram: pantenol, ácido azeláico, ácido cítrico, e pantolactona.

Destas moléculas, foram sintetizados 8 materiais poliméricos: poli(azelato de pantenila), poli(adipato de pantenila), poli(adipato de isosorbila-co-pantenila), poli(azelato de isosorbila), poli(adipato-co-azelato de isosorbila), poli(citrato de isosorbila), poli(adipato de isosorbila-co-citrato) e oligômero de polipantolactona. Todos os materiais foram sintetizados utilizando a enzima *Candida antarctica* fração B (CAL-B) como catalisador, em solvente orgânico, utilizando peneira molecular para remoção do subproduto da reação. As caracterizações foram feitas através de RMN-^{1}H, MALDI-ToF e GPC.

Palavras-Chave: Pantenol, ácido azeláico, ácido cítrico, pantolactona, glicerol, isosorbídeo, CAL-B, dispositivo de liberação controlada de fármacos.

Abstract

Barizon, L. A. **Synthesis of polymeric materials containing bioactive molecules using renewable raw material via enzymatic catalysis.** 2013. 102p. Masters Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo

Since the invention of the first synthetic polymer by John Wesley in 1868, the use of this class of materials has continuously grown. Currently, there is a great interest in adding nobler attributes to these materials, such as their use in biological devices, quality of rapid degradation and, more recently, the preference for those made from renewable feedstock, reducing the environmental impact generated by the use oil and derivatives.

The objective of this work is to create materials of renewable material origin and easy degradation, using enzymatic catalysis thus avoiding the use of toxic metal catalysts. Furthermore, we intended to add biologically active molecules, so that the final products may exhibit pharmacological properties. The bioactive substances selected for this study were: panthenol, azelaic acid, citric acid, and pantolactone.

From these molecules eight different polymeric materials were synthesized: poly(pantenyl azelate), poly(pantenyl adipate), poly(isosorbyl-co-pantenyl adipate), poly(isosorbyl azelate), poly(isosorbyl adipate-co-azelate) poly(isosorbyl citrate), poly(isosorbyl adipate-co-citrate) and oligomer of polypantolactone. All materials were synthesized using the enzyme *Candida antarctica* fraction B (CAL-B) as catalyst in organic solvent using molecular sieves to remove the byproduct of the reaction. The characterizations were made by 1H NMR, MALDI-ToF and SEC.

Keywords: Panthenol, azelaic acid, citric acid, ascorbic acid, pantolactone, glycerol, isosorbide, CAL-B drug delivery.

Lista de Abreviaturas e Siglas

CAL-B: Lípase de *Candida Antactica* fração B

PLA: Poli(ácido láctico)

PGA: Poli(ácido glicólico)

PCL: Policaprolactona

PHB: Poli(β-hidroxibutirato)

FDA: Food and drug administration

T_g: Temperatura de Transição Vítrea

PET: Politereftalato de etileno

PBT: Polibutileno tereftalato

Asp: Aspartato

His: Histidina

Ser: Serina

M_w: Massa molecular média ponderal

M_n: Massa molecular média numérica

PIA: Poli(adipato de isosorbila)

PLLA: Poli(L-ácido láctico)

PMMA: Polimetilmetacrilato

PVC: Cloreto de polivinila

THF: Tetraidrofurano

MALDI-ToF: Matrix assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometer

RMN: Ressonância magnética nuclear

SEC: Size exclusion chromatography

GPC: Gel permeation chromatography

PIZ: Poli(azelato de isosorbila)

Índice de Figuras

Figura 1 - Síntese do Isosorbídeo[3] 16
Figura 2 - Dianidroexitóis[3] 17
Figura 3 - Modelagem da Superfície da Enzima CAL-B[32] 25
Figura 4 - Mecanismo de reação do sitio ativo da enzima CAL-B 26
Figura 5 – Ilustração da Estrutura Química do Glicerol 26
Figura 6 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Cítrico 28
Figura 7 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Ascórbico 30
Figura 8 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Azeláico 31
Figura 9 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Pantotênico 33
Figura 10 - Ilustração da Estrutura Química do Pantenol 34
Figura 11 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Adípico 35
Figura 12 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Ricinoleico 37
Figura 13 - Tipos de reações realizadas nas polimerizações dos novos materiais 49
Figura 14 - Combinações realizadas entre as moléculas de interesse 50
Figura 15 - Esquema da estrutura do citrato de trietila, com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 16 57
Figura 16 - RMN-^{1}H - Monômero Citrato de Trietila 58
Figura 17 - Esquema da estrutura do polímero adipato de isosorbila, com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 18 62
Figura 18 - RMN-^{1}H - Amostra de poli(adipato de isosorbila) 62
Figura 19 - Esquema da estrutura do polímero adipato de isosorbila co-glicerol, com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 20 64
Figura 20 - RMN-^{1}H - Amostra G3 65
Figura 21 - RMN-^{1}H - Picos de Glicerol, trabalho do trabalho publicado por Gross R.[35b] 66
Figura 22 - RMN-^{1}H - Ampliação do grupo de picos 10 (Figura 20) 66
Figura 23 - Estrutura química da molécula de glicerol, onde os números representam os hidrogênios encontrados no RMN da figura 24 67
Figura 24 - RMN-^{1}H - Glicerol Puro 67
Figura 25 - RMN-^{1}H - Ampliação do grupo de picos 1 e 2 (Figura 24) 68
Figura 26 - MALDI-ToF - Amostra G3 71

Figura 27 - MALDI-ToF - Amostra G3 - Ampliação da Figura 19 72
Figura 28 - Esquema da estrutura do polímero poli(adipato co-zelato de isosorbila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 29..... 74
Figura 29 - RMN-^{1}H - Amostra Poli(adipato co-azelato de isosorbila)..... 75
Figura 30 - Esquema da estrutura do monômero azelato de dietila, com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 31 75
Figura 31 - RMN-^{1}H- Dietil Azelato..... 76
Figura 32 - Hidrogênios analisados do polímero Poli(adipato de isosorbila). 76
Figura 33 - RMN-^{1}H – Polímero Poli(adipato de isosorbila)..... 77
Figura 34 - MALDI-ToF - Amostra Az3..... 78
Figura 35 - Fragmento Polimérico - Azelato+Isosorbídeo+Adipato..... 78
Figura 36 - MALDI-ToF – Polimero Poli(adipato co-azelato de isosorbila) (Ampliação da Figura 34)..... 79
Figura 37 - Fragmento Polimérico - Isosorbídeo+Azelato..... 81
Figura 38 - MALDI-ToF - Amostra Az4..... 81
Figura 39 - MALDI-ToF - Amostra Az4 (Ampliação da Figura 28) 82
Figura 40 - Esquema da estrutura do polímero Poli(azelato de isosorbila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 41 83
Figura 41 - RMN-^{1}H – Polímero Poli(azelato de isosorbila) 83
Figura 42 - Esquema da estrutura do polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 43..... 87
Figura 43 - RMN-1H – Polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila)..... 87
Figura 44 - RMN-^{1}H – Polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila) - Ampliação do grupo de picos 9 (Figura 43)..... 88
Figura 45 - Fragmento Polimérico - Citrato+Isosorbídeo+Adipato 89
Figura 46 - MALDI-ToF – Polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila)..... 89
Figura 47 - MALDI-ToF – Polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila) - Ampliação da Figura 46..... 90
Figura 48 - Fragmento Polimérico - Citrato+Isosorbídeo 91
Figura 49 - MALDI-ToF – Polímero Poli(citrato de isosorbila)..... 92
Figura 50 - Fragmento Polimérico - Pantenol+Adipato 95
Figura 51 - MALDI-ToF – Polímero poli(adipato de pantenila)..... 95
Figura 52 - MALDI-ToF - Polímero poli(adipato de pantenila) (Ampliação da Figura 51)..... 96

Figura 53 - Esquema da estrutura do polímero Poli(adipato de pantenila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 54 97
Figura 54 - RMN-^{1}H – Polímero poli(adipato de pantenila) 97
Figura 55 - Fragmento Polimérico - Pantenol+Adipato+Isosorbídeo 98
Figura 56 - MALDI-ToF – Polímero Poli(adipato de isosorbila co-pantenila)..... 99
Figura 57 - MALDI-ToF - Amostra PoC1 - Ampliação da Figura 56 99
Figura 58 - Esquema da estrutura do polímero Poli(adipato de isosorbila co-pantenila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 59..... 101
Figura 59 - RMN-^{1}H – Polímero Poli(adipato de isosorbila co-pantenila) 101
Figura 60 - Fragmento Polimérico - Pantenol+Azelato 103
Figura 61 - MALDI-ToF - Amostra AzPo1 104
Figura 62 - MALDI-ToF - Amostra AzPo1 - Ampliação da Figura 47 104
Figura 63 - Esquema da estrutura do polímero Poli(azelto de pantenila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 64 105
Figura 64 - RMN-^{1}H - Amostra AzPo1..... 106
Figura 65 - RMN-1H - Amostra Pl1 Figura 66 - RMN-1H - Pantolactona Pura..... 108

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Análise de MALDI-ToF - Amostra G3 70
Tabela 2 - Análise de MALDI-ToF - Amostra Az3 79
Tabela 3 - Análise de MALDI-ToF - Amostra Az4 82
Tabela 4 - Análise de MALDI-ToF - Amostra Ct1 90
Tabela 5 - Análise de MALDI-ToF - Amostra Ct4 92
Tabela 6 - Análise MALDI-ToF - Amostra Po1 96
Tabela 7 - Análise de MALDI-ToF - Amostra PoC1 100
Tabela 8 - Análise de MALDI-ToF - Amostra AzPo1 105

Sumário

1 - Introdução 133
Dianidroexitois 166
Isosorbídeo 188
Enzima 19
Lipases 244
Moléculas de interesse 266
Glicerol: 266
Ácido cítrico: 28
Ácido ascórbico: 30
Ácido azeláico: 31
Ácido Pantotênico (Vitamina B5): 333
Pantenol (Provitamina B5): 344
Ácido Adípico 355
Ácido Ricinoleico: 377
2 - Objetivos 49
3 - Materiais e Métodos 40
Materiais 40
Equipamentos 41
MALDI-ToF (Espectrometria de Massa) 41
RMN (Ressonância Magnética Nuclear) 422
SEC (Cromatografia por Exclusão de Tamanho) 422
CG-MS (Cromatografia Gasosa) 422
Purificação dos Reagentes e Solventes 433
Síntese dos Diésteres 444
Sínteses dos Polímeros 46
Copolimerização Utilizando Glicerol 50
Funcionalização com Azelato 52
Funcionalização com Citrato 52
Funcionalização com Pantenol 54
Funcionalização com Ácido Ascórbico 554
Funcionalização com Pantolactona 555
Funcionalização com Ácido Ricinoleico 565
4 – Resultados e Discussões 577
Caracterização dos Monômeros 577

Caracterização das Amostras Poliméricas 599
Funcionalização com Glicerol 63
Poli(adipato de isosorbila-co-glicerol) 63
Funcionalização com Azelato 72
Poli(adipato-co-azelato de isosorbila) 72
Poli(azelato de isosorbila) 80
Funcionalização com Citrato 84
Poli(adipato-co-citrato de isosorbila) 84
Poli(citrato de isosorbila) 91
Funcionalização com Pantenol 93
Poli(adipato de pantenila) 93
Poli(adipato de isosorbila-co-pantenila) 98
Poli(azelato de pantenila) 102
Funcionalização com Ácido Ascórbico 106
Poli(azelato de ascorbila) 106
Funcionalização com Pantolactona 107
Polipantolactona 107
5 - Conclusões 109
7 – Bibliografia 112

1 - Introdução

A utilização de materiais biodegradáveis é de grande interesse para a humanidade devido a necessidade de descarte dos materiais utilizados da forma que fossem menos danosos possível ao meio ambiente. Material biodegradável é todo material que, durante ou após o seu uso, pode ser decomposto quando em contato com um organismo vivo[1], estes podem ser utilizados de forma a diminuírem o impacto ambiental criado por resíduos antropogênicos à natureza.

A busca por materiais biodegradáveis pode também provir de matéria derivada de fontes renováveis, como a biomassa, excelente na substituição do combustível fóssil devido a sua disponibilidade inesgotável e diminuição do impacto ambiental devido ao "sequestro de carbono".

Os dois conceitos em conjunto podem melhorar o problema da degradação da natureza, tanto com a diminuição da exploração de recursos finitos, quanto com a diminuição da degradação da natureza proveniente da poluição gerada por produtos sintéticos não degradáveis.

Sendo de grande interesse a exploração de biomateriais poliméricos provenientes de biomassa devido a grande maioria dos polímeros industriais sintetizados atualmente serem provenientes de fonte finita, o petróleo, gerando materiais de difícil degradação, podendo levar milhares de anos para se decomporem na natureza gerando um grande impacto ambiental.

Materiais biodegradáveis podem servir também como biomateriais, ou seja, material utilizado para substituir sistemas biológicos no todo ou em parte, constituindo-se de materiais metálicos, cerâmicos, poliméricos (sintéticos ou naturais), compósitos ou biorecobrimentos.[1]

Biomateriais poliméricos biodegradáveis podem ser utilizados para dispositivos de liberação controlada de fármacos. Estes dispositivos permitem o armazenamento e proteção de moléculas ativas farmacologicamente permitindo que estas atinjam seu alvo no organismo antes que sejam degradadas devido sua fácil metabolização, chegando ao seu destino em concentrações ideais, e permanecendo durante o tempo necessário para o tratamento.

A utilização de medicamentos via administrações convencionais podem gerar a degradação de parte do medicamento através da hidrólise ácida no estômago, inabilidade do atravessamento do medicamento através da membrana cerebral, degradação via enzimática, desativação do medicamento pelo fígado antes deste atingir o seu alvo, ou uma simples degradação e reações indesejadas na célula ou no sangue.[2]

A utilização de macromoléculas poliméricas biodegradáveis e bioativas para a liberação de fármacos no organismo é possível pela sua capacidade de armazenamento e proteção do fármaco entre suas fibras ou incorporadas ao polímero como oligômeros, sendo liberados de forma controlada e em locais específicos após a degradação do material.

A biodegradabilidade de um polímero é baseada na presença de ligações hidrolisáveis ou oxidáveis ao longo de sua cadeia. As ligações dos grupos funcionais amida, enamina, éster, uréia e uretana, por exemplo, são suscetíveis à biodegradação por microorganismos e enzimas hidrolíticas. Como exemplos de poliésteres alifáticos com estruturas hidrolisáveis podem ser citados o poli(ácido láctico), PLA, poli(ácido glicólico), PGA, policaprolactona, PCL, e poli(β-hidroxibutirato), PHB, sendo este último produzido por uma variedade grande de microorganismos como um material de estocagem intracelular para ser usado como fonte de energia e carbono.

A velocidade de biodegradação de poliésteres depende da sua composição química, do comprimento da cadeia, da massa molar, do balanço energético hidrofílico/hidrofóbico e também do grau de cristalinidade, tamanho dos esferulitos, área superficial da amostra, aditivos, etc. Biopolímeros biodegradáveis e bioativos podem ser utilizados em dispositivos de liberação controlada de fármacos, curativos, peles artificiais, suporte celular, substituição para polímeros utilizados em bens de consumos não duráveis, como embalagens para alimentos, etc.

A utilização de polímeros biocompatíveis e biodegradáveis em dispositivos de liberação controlada de fármacos possibilitam um controle mais preciso da dosagem de medicamentos no organismo sem a necessidade de manutenção de dosagens elevadas de drogas que possam acarretar no aumento de efeitos colaterais medicamentosos e "overdoses". A utilização destes dispositivos facilita o tratamento de doenças crônicas, regulação hormonal ou o controle da concentração de outros compostos de interesse no sangue, como vitaminas, possibilitando a manutenção da concentração basal da substância na corrente sanguínea, a partir da degradação do dispositivo implantado na pele.

O desenvolvimento de polímeros derivados de biomassa é um dos mais importantes e urgentes assuntos do ponto de vista da preservação ambiental, considerando-se o fato de que a grande maioria dos polímeros utilizados para fins comerciais origina-se de monômeros derivados do petróleo. A poluição ambiental causada pela produção e o descarte de polímeros derivados do petróleo tem levantado um crescente interesse nas indústrias químicas por polímeros derivados da biomassa. Assim, polímeros derivados do amido ou outros carboidratos são de grande interesse, por serem provenientes de fontes inteiramente renováveis. Consequentemente, não é

surpreendente o grande aumento das atividades de pesquisa nesse campo nos últimos anos.

Dianidroexitois

Muitos biopolímeros sintetizados inteiramente de fonte de matéria renováveis são feitos a partir de amido ou outros carboidratos, porém a utilização destes compostos para a síntese de materiais com estruturas bem definidas é muito difícil por causa da quantidade de hidroxilas na molécula[3], o que pode levar a síntese de matérias com estruturas racêmicas e muito ramificadas.

Uma alternativa para evitar o problema de racemização e ramificação dos polímeros provenientes de biomassa, é utilizar derivados de amido e carboidratos que não possuíssem tantos grupos funcionais que levassem a tal problema, como os dianidroexitois.

Os dianidroexitois são derivados de biomassa renovável mas que possibilitam a síntese de polímeros com estruturas bem definidas por não possuírem hidroxilas livres além das duas hidroxilas terminais utilizadas para o crescimento polimérico.

Dianidroexitois são provenientes da biomassa obtidos da indústria do açúcar através da dupla desidratação da glicose, manose e frutose.

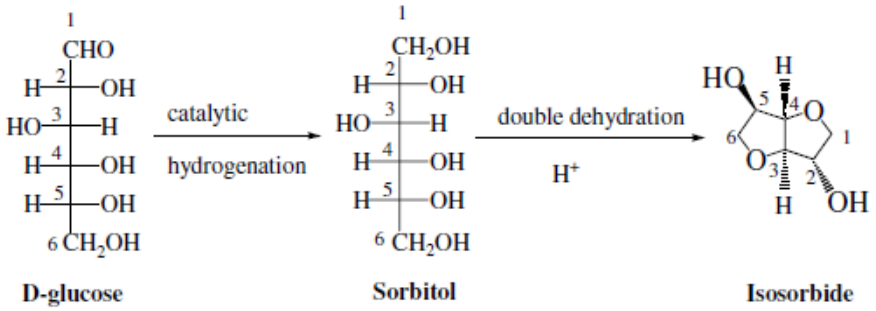

Figura 1 - Síntese do Isosorbídeo[3]

Os três dianidroexitois provenientes da glicose, manose e frutose são respectivamente: isosorbídeo, isomanídeo e isoididio. Todos compostos quirais.

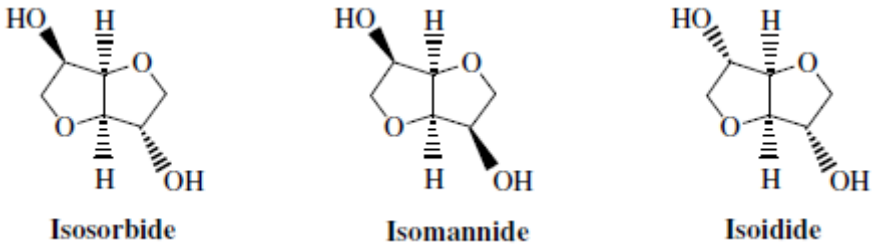

Figura 2 - Dianidroexitóis[3]

Estes compostos são classificados de acordo com as configurações relativas das duas funções hidroxila. Os dianidro exitois possuem dois anéis aproximadamente planares fundidos em *sis* como se fossem no formato "V" com as hidroxilas terminais nas posições C2 e C5, que podem estar nas posições endo ou exo com relação a cunha formada pelos anéis.

Na molécula de isosorbídeo as hidroxilas terminais estão na configuração "*endo*" e "*exo*", no isomanídeo ambas as hidroxilas estão na configuração "*endo*" e no isoididio ambas as hidroxilas estão na configuração "*exo*".

Estas configurações levam a uma diferença de reatividade entre as moléculas, sendo o isoididio o mais reativo por possuir uma face menos impedida estericamente, o isosorbídeo com reatividade intermediaria por possuir uma hidroxila em trans com a molécula e por último o isomanídeo sendo o menos reativo por possuir impedimento estérico em ambas as faces do anel.

Devido aos dianidroxitois serem provenientes de biomassa e renováveis e por não terem os problemas de racemização e ramificação do produto, estes são extensivamente utilizados na literatura, já sendo utilizados na síntese de poliésteres[4], polieteres[5], poliuretanos[6] e policarbonatos[1].

São também produtos baratos por conta de sua fácil obtenção, o que os tornam comercialmente viáveis, além de serem produtos ecologicamente corretos devido a possibilidade de renovação, o que não ocorrem com polímeros derivados de petróleo.

Os dianidro exitois são substancias atóxicas e sensíveis a hidrolese, degradam-se em questão de meses em contato com a água, e por isso são muito úteis para síntese de matérias biodegradáveis, além de serem aprovados pelo FDA (Food and Drug Administration) como produtos para utilização em seres humanos, o que os torna capazes para utilização em dispositivos de liberação controlada de fármacos.

Isosorbídeo

O isosorbídeo é o dianidroexitol mais acessível e o mais estudado recentemente, por ser proveniente da hidrogenação e subsequente desidratação da D-glicose.

Por este motivo é também o mais abundante e o mais barato dianidroexitol produzido, além de ser aprovado pela FDA como material seguro para utilização em humanos.

Isosorbídeo é muito utilizado para aumentar a temperatura de transição vítrea (T_g) de polímeros comerciais, além de ser quimicamente muito estável, sendo possível aquecer um polímero que possua isosorbídio a temperatura de ~300ºC sem que ocorra decomposição ou racemização do material[7].

Polímeros de isosorbídeo também não são sensíveis a racemização em ambientes ácidos e básicos, o que o torna um excelente monômero para síntese de polímeros com estruturas bem definidas, provenientes inteiramente de fonte de matéria renovável, dando ao polímero uma T_g alta, o que possibilita a fabricação de dispositivos dando ao material uma excelente proteção à degradação indesejada, e ao mesmo tempo sendo excelente para a utilização como material biodegradável por ser facilmente hidrolisável em água.

A incorporação de isosorbídeo à cadeia polimérica de poliésteres tem provado ser uma abordagem interessante para obter produtos com melhores propriedades. Por exemplo, a inclusão de pequenas quantidades de isosorbídeo em poliésteres aromáticos resulta em polímeros com temperatura de transição vítrea e estabilidade térmica maiores, ampliando a potencialidade de novas aplicações desses materiais[1 7].

Em particular, a introdução de isosorbídeo em poliésteres à base de tereftalatos, como poli(tereftalato de etileno), PET, e poli(butileno teraftalato), PBT. Comercialmente, o aumento da temperatura de transição vítrea das embalagens de PET as tornaria mais resistentes à deformação a quente, abrindo caminho para sua utilização em envase a quente, o que permitiria expandir, ainda mais, esse mercado multibilionário das embalagens de PET. Numerosos polímeros contendo isosorbídeo foram sintetizados e caracterizados nas últimas três décadas, incluindo patentes concedidas[7].

O isosorbídeo vem sendo estudado na literatura há mais de 60 anos onde em grande parte são utilizados para síntese de poliésteres a partir de cloretos de diácidos carboxílicos de diversas origens, alifáticos a aromáticos, sendo alguns destes autores, Montgomery[8], Jenkins[9], Thiem[10], Okada[11], Brandenburg[12], Catalani e Gross[13], entre outros, demonstrando assim a importância e utilidade do isosorbídeo como monômero sustentável, fonte de biomassa para síntese de polímeros.

Enzima

Uma atividade que tem crescido nos últimos anos é o uso industrial de enzimas isoladas. Essas enzimas, originadas de organismos vivos, têm encontrado diversas aplicações como catalisadores para a síntese de polímeros in vitro.

Devido a suas características como diversidade, especificidade e biodegradabilidade, polímeros de origem enzimática têm recebido cada vez mais atenção como candidatos a aplicações industriais. Em muitos casos, enzimas levam à

síntese de polímeros que eram impraticáveis ou impossíveis de serem obtidos através da química convencional[14].

O termo biotransformação pode ser aplicado para modificações específicas ou interconversões na estrutura química, realizadas por enzimas presentes nas células ou na forma isolada. A biotransformação difere da fermentação, na qual o substrato é convertido a produtos através de um caminho metabólico bastante complexo na célula.

A utilização de enzimas como catalisadores em reações sintéticas em meio orgânico não é recente; as primeiras são do início do século XX. Entretanto, o interesse por estes sistemas ressurgiu após a publicação dos trabalhos de Zaks e Klibanov, no início dos anos 80[15].

As enzimas apresentavam pouca utilidade em síntese orgânica devido, principalmente, à ideia pré-concebida de que somente o meio aquoso era propício para manter a conformação estrutural cataliticamente ativa. Entretanto, sabe-se atualmente que muitas enzimas (ou complexos enzimáticos) são cataliticamente ativas em ambientes hidrofóbicos, com eficiência similar àquela encontrada em soluções aquosas, ou em certos casos até superior. Acredita-se que as enzimas sejam cataliticamente ativas em meio orgânico porque permanecem na sua forma original, e não se desdobram em meio não-aquoso. Esta característica deve-se, em parte, ao aumento das interações eletrostáticas entre os grupos integrantes da enzima em solventes orgânicos e à baixa constante dielétrica da maioria deles e, também, ao aumento do número de ligações de hidrogênio intramoléculares[16].

A utilização destas técnicas tem sido crescente nos últimos vinte anos e, com isso, novas informações teóricas e aplicações práticas estão surgindo. O uso de biocatalisadores imobilizados também é crescente em escala industrial, especialmente na indústria farmacêutica, de detergentes, couros e panificação, entre outras [17].

Enzimas podem ser utilizadas em polimerizações, usufruindo das vantagens: alta eficiência na conversão de substratos devido à sua alta seletividade para uma dada transformação orgânica; alta enantio e regiosseletividade; possibilidade de reciclagem do catalisador, possibilidade de serem usadas na maioria dos meios reacionais, inclusive solventes orgânicos; evitam o uso de catalisadores potencialmente tóxicos, que em sua maioria possuem em sua composição metais pesados, como octanoato de estanho utilizado na polimerização de alguns polímeros. Podendo causar intoxicação em seres vivos quando aplicados em biomateriais devido à liberação do metal pesado enclausurado no polímero após a degradação do material.

Avanços recentes na enzimologia não-aquosa têm expandido significativamente as condições potenciais nas quais as reações de polimerização via catálise enzimática podem ser executadas. Exemplos de meios reacionais alternativos incluem vários solventes orgânicos, misturas bifásicas de solventes orgânicos com misturas aquosas, sistemas de micelas reversas, e fluidos supercríticos. Meios de reação não tradicionais têm oferecido novas opções para o controle do peso molecular, assim como da morfologia e arquitetura dos produtos poliméricos. Devido ao fato de que esterificações e transesterificações enzimáticas tem se mostrado efetivos em solventes orgânicos, muitas reações enzimáticas em meios não aquosos tem sido reportadas[18].

As enzimas estão sujeitas à inativação por fatores químicos, físicos ou biológicos, podendo ocorrer quando estocadas ou durante o uso. Para que a catálise seja eficiente em um determinado processo, há necessidade de protegê-las da interação com o solvente, meio no qual é realizada a reação, pois o mesmo poderia provocar a inativação, impossibilitando a catálise da reação. Frente a este problema, novas técnicas de imobilização têm sido desenvolvidas para fornecer a estabilidade das enzimas e facilitar sua recuperação e reutilização[19].

A polimerização por catálise enzimática vem se desenvolvendo rapidamente, principalmente nas duas últimas décadas, através de trabalho de autores como Gross[14] e Kobayashi[20], utilizando monômeros variados como, ácidos dicarboxilicos com glicóis[21], oxiácidos[22] , oxiesters[23], lactonas[24] e lactideos[25]. A síntese de poliésteres alifáticos por processos enzimáticos tem sido amplamente estudada do ponto de vista da ciência de matérias biodegradáveis[26].

[1]As enzimas são proteínas especificamente utilizadas para acelerar reações químicas termodinamicamente não favoráveis em seres vivos.

Para ser classificada com enzima uma proteína deve apresentar:

- Excelente eficiência catalítica
- Possuir um alto grau de especificidade com os reagente e produtos da reação
- Aumentar a velocidade da reação cerca de 10^6 a 10^{12} mais rápido que a mesma reação não catalisada
- Não ser consumida ou alterada na reação
- Não alterar o equilíbrio químico das reações.

A enzima é a única substancia biológica criada com fim especifico de funcionar como um catalisador natural, sendo assim torna possíveis reações que não ocorreriam ou ocorreriam muito lentamente nos organismos vivos, sendo assim um componente essencial para vida e muito abundante devido a isso.

Porém enzimas são altamente especificas quanto aos reagentes, isto devido ao local onde as reações são realizadas, o sitio ativo.

[1] As informações contidas nas páginas 10-12 foram baseadas no livro 27. Motta, V. T. d., *Bioquímica*. EDUCS - Editora da Universidade de Caxias do Sul: 2005.

Sitio ativo é uma cavidade presente na superfície da enzima onde se encontram os grupos funcionais que participam da reação, onde cada enzima possui um arranjo de grupos responsáveis pela realização das reações que ocorrem de forma não covalentes, tornando assim cada enzima especifica para um tipo de reação.

As enzimas podem ser divididas em 6 grupos conforme o tipo de reações que estas realizam:

- Oxidorredutases
- Transferases
- Hidrolases
- Liases
- Isomerases
- Ligases

As oxidoredutases atuam nas reações de oxidação-redução, as transferases na transferência de grupos funcionais, as hidrolases nas reações de hidrólises as liases na remoção de grupos funcionais para formação de duplas ligações, as isomerases em isomerizações e as ligases nas ligações entre duas moléculas.

Vários fatores influenciam na atividade enzimática, entre eles, temperatura, pH e a concentração da enzima.

Em geral reações químicas acontecem mais rapidamente com o aumento da temperatura, isso devido ao aumento da energia dos produtos o que os leva a uma energia mais próxima do estado de transição que leva aos produtos, quando utilizados enzimas esta mesma regra se aplica porém existe uma temperatura ótima para o funcionamento da enzima onde acima de tal temperatura existe uma queda abrupta da velocidade devido a desnaturação da enzima.

Enzimas também são sensíveis a presença de íons hidrogênio devido a várias reações no sitio ativos serem realizadas por ionização de aminoácidos, sendo a maioria das enzimas ativas em intervalos estreitos de pH.

A velocidade da reação enzimática está ligada também a concentração da enzima, quanto maior a concentração da enzima maior a velocidade de reação.

Lipases

Lipases são enzimas hidrolíticas pertencentes ao grupo das hidrolases, ou seja, são especificas para reações de hidrólise.

No corpo humano atuam na hidrolise de ácidos graxos, porém em solvente orgânico atuam como catalisadores de esterificação e transesterificação[28].

Particularmente as lipases apresentam uma alta tolerância aos grupos funcionais orgânicos e uma excelente atividade reacional e versatilidade na polimerização e transesterificação de diésteres e dióis. É facilmente removida do meio reacional e do solvente, utilizando apenas filtração, e são altamente utilizadas nas arias biomédicas e farmacêuticas.

São eficientes em resolver misturas racêmicas de álcoois e ésteres[29], são facilmente encontradas, termicamente estáveis e bastante robustas. Não precisam de co-fator e podem ser utilizadas em solventes orgânicos, e vem sendo uma excelente ferramenta na síntese orgânica assimétrica.

O sitio ativo das lipases consiste na tríade Aspartato/Glutamato, histidina e serina, as reações catalisadas por esta enzima sempre envolvem estes três aminoácidos no sitio ativo, e não necessitam de co-fatores para seu funcionamento.

A mais famosa e versátil lipases utilizada na indústria é a lipase de *Candida Antarctica* fração B[30], CAL B, devido principalmente sua promiscuidade catalítica,

podendo catalisar uma alta grama de reações como amidação, transesterificação, abertura de anéis de vários carbonatos e fosfonatos[31]

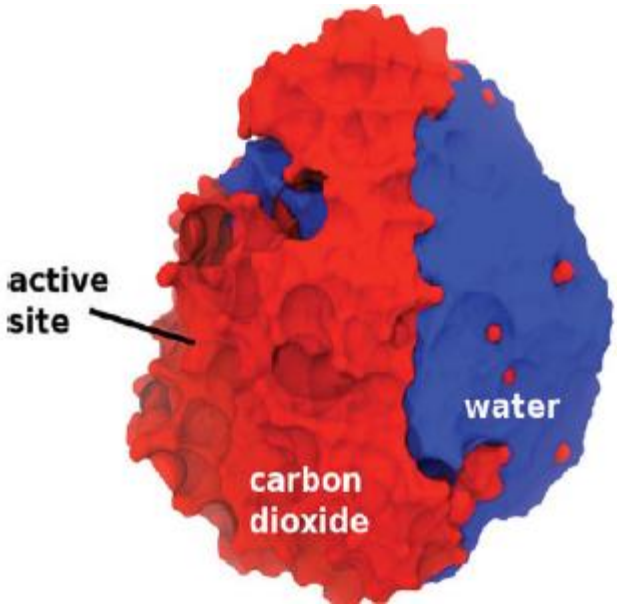

Figura 3 - Modelagem da Superfície da Enzima CAL-B[32]

A imagem mostrada acima é uma simulação molecular dinâmica computacional da enzima CAL-B nos solventes água e dióxido de carbônio supercrítico, nela podemos observar a disposição dos grupos hidrofóbicos e hidrofílicos da enzima.

Como é possível observar na simulação, o sitio ativo da enzima CAL-B situa-se na parte hidrofóbica da macro-molécula, o que explica sua eficácia em sínteses orgânicas em solventes hidrofóbicos.

Comercialmente a CAL-B é imobilizada em uma resina acrílica com macropóros (Novozym 435), desenvolvida pela indústria para modificação de óleos trigliceridios, podendo ser reutilizada em polimerizações por 5x com bom rendimento[28].

O mecanismo pelo qual ocorre a esterificação dos monômeros e consequentemente o crescimento polimérico é representado pela figura a baixo, onde são demonstradas as reações que ocorrem com cada aminoácido pertencente ao sitio ativo da enzima CAL-B.

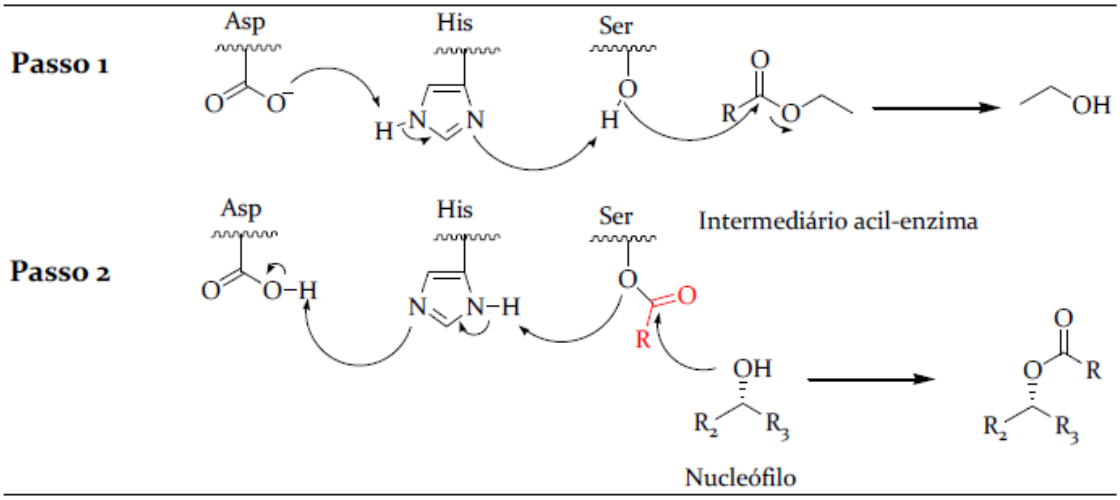

Figura 4 - Mecanismo de reação do sitio ativo da enzima CAL-B

Moléculas de interesse

Glicerol:

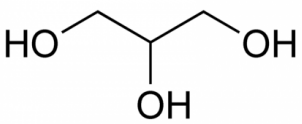

Figura 5 – Ilustração da Estrutura Química do Glicerol

Glicerol é uma das mais versáteis e valiosas substancias químicas utilizadas em uma variedade de produtos comerciais, não sendo conhecidos efeitos adversos na área farmacológica e ambiental[33]. Apresenta uma boa estabilidade química sendo inerte em ambientes biológicos, sendo assim muito utilizado em biomoléculas[34].

O glicerol é obtido em excesso na produção de biodiesel a partir da transesterificação de óleos vegetais e animais, sobrando no mercado glicerol bruto sendo fundamental ambientalmente transforma-lo em um material com valor agregado.

É obtido através de óleos e subproduto da síntese de sabões e ácidos graxos, é utilizado como solvente, umectante, plastificante, emulsificante, principalmente na indústria alimentícia e farmacêutica.

- Vários polímeros contendo glicerol são reportados na literatura, inclusive sintetizados a partir de catálise enzimática:
- Gross sintetizou diversos polímeros, copolímeros, inclusive super ramificados, "hyperbranched polymers (HBPs)", de glicerol utilizando lipases[35].
- Em 1999 Baldessari[36] realizou a síntese de poliéster de adipato com glicerol obtendo um polímero de M_w= 1700 g/mol através de síntese enzimática utilizando CAL-B. Em 2005 Gross[35b] também sintetizou poliésteres de glicerol com adipato e octanodiol com adipato utilizando CAL-B, porém obtendo M_w= 75.600 g/mol.
- Em 2001 Torres[37] esterificou via catálise enzimática glicerol com ácido linoleico e longas cadeias de ácidos graxos provenientes de óleo de peixe.
- Em 2010 Sharma[33] sintetizou utilizando CAL-B poliéster de glicerol com poli-etilenoglicol-bis-carboximetil-eter. Polimerizando a partir das hidroxilas primarias, e em seguida adicionando via acilação, cloreto de ácidos de compostos farmacológicos na hidroxila secundaria.
- Em 2012 Agach[34] sintetizou oligômeros de ácido succinico e glicerol.
- Em 2009 Djordjevic[38] sintetizou um polímero de glicerol e ácido cebasico biodegradável e biocompatível.

Observa-se que desde o ano de 1999 até os dias de hoje o glicerol vem sendo bastante utilizado em sínteses de polímeros devido sua propriedade de possibilitar a adição de hidroxilas livres aos polímeros para subsequentes funcionalizações, observa-se também uma preocupação quanto a forma de síntese contendo esse material, onde

vem sendo bastante explorada a utilização de enzimas como catalizadores das reações visando assim materiais não tóxicos que podem ser biodegradáveis e biocompatíveis.

Desta forma optou-se pela utilização do glicerol como “links” para futuras funcionalizações do PIA, poli(adipato de isosorbila), neste trabalho, devido a comprovação da eficácia de sínteses utilizando glicerol e enzimas na literatura, além de sem um material proveniente de fonte renovável.

O objetivo com o glicerol neste trabalho é a criação de um polímero anfifílico que pudesse também ser utilizado como suporte para inserções de moléculas bioativas ligadas covalentemente as hidroxilas secundárias livres do polímero, a fim de criar um material que fosse parcialmente solúvel em meio aquoso podendo ser utilizado como dispositivo de liberação controlada de fármacos.

Ácido cítrico:

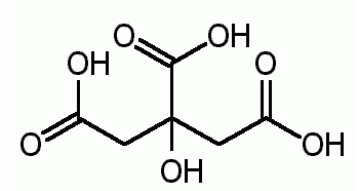

Figura 6 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Cítrico

O ácido cítrico é principalmente utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica, usado como conservante natural (antioxidante), acidulante, sal efervescente e xarope farmacêutico.

É produzido comercialmente através de fermentação, possui dois ácidos carboxílicos primários e um secundário, este ultimo menos reativo, por ser mais impedido estericamente.

Poli citrato diois são uma promessa significativa para utilização em engenharia de tecido vascular devido as suas propriedades anti-coagulantes, a capacidade de

suportar a adesão, a proliferação, diferenciação de células endoteliais, e reduzir a adsorção e ativação de plaquetas[39].

Foi dado como monômero funcional para filmes biopoliméricos, sendo relatadas sínteses com ele e com vários álcoois primários e secundários incluindo dianidroexitois[40].

Em sínteses poliméricas é muito utilizado para realização de cross link, inclusive de moléculas bioativas provenientes de biomassa como amido, fibras de celulose ou de milho[40]. O que ocorre de maneira semelhante com o glicerol, devido inserção de um grupo funcional livre a cadeia polimérica para funcionalizações subsequente, ou neste caso servindo para cross link das cadeias.

Várias publicações descrevem a síntese de poliéster biodegradáveis com base em ácido cítrico, em combinação com polióis, tais como glicerol, gluconolactona, sorbitol, álcoois alifáticos lineares, e poli-etileno-glicóis[40]. Porém todas elas catalisadas por catalizadores metálicos, o que pode significar um risco para aplicação em ambientes biológicos.

O ácido cítrico é também usado para aumentar a hidrofilicidade do polímero, o que é almejado neste trabalho utilizando além do ácido cítrico também o glicerol. Na literatura o citrato é encontrado como comonômero em PLLA, poli(L-ácido láctico), a fim de aumentar a hidrofilicidade do polímero e assim aumentar a velocidade de sua biodegradação[41].

É também utilizado em materiais bioabisorviveis feito a partir do PLA[41], filmes biodegradáveis de gluconolactona[42], elastômeros biodegradáveis e biocompatíveis de poli(1,8-octanodiol-co-citrato)[39] e simplesmente a síntese do poli-ácido-cítrico[43], polímero cem por cento feito da molécula de interesse.

Poliésteres de ácido cítrico altamente ramificados vêm sendo utilizados como matrizes para controle e sustentação de dispositivos de liberação de fármacos e resinas sintéticas.

Demonstrando ser uma molécula excelente para aplicações biológicas, pois já são relatados na literatura materiais bioabisorviveis, biocompatíveis e biodegradáveis, portando já sendo comprovada sua eficácia para tal fim, porém não foram encontrados relatos de sínteses destes materiais utilizando enzimas como catalizador, sendo esse um dos objetivos deste trabalho para esta molécula.

Ácido ascórbico:

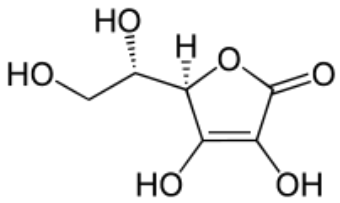

Figura 7 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico (vitamina C) é uma molécula usada na hidroxilação de várias reações celulares. A sua principal função é a hidroxilação do colágeno, a proteína fibrilar que dá resistência aos ossos, dentes, tendões e paredes dos vasos sanguíneos. É também um excelente antioxidante natural utilizado no combate aos radicais livres.

No corpo humano o ácido ascórbico desempenha um papel fundamental na síntese e função de tecido ósseo e sistema imunológico. O ácido ascórbico é o maior antioxidante fisiológico, reparador de danos oxidativos em biomoléculas. Previne a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio e a limpeza destas espécies.

A molécula de ácido ascórbico vem sendo amplamente utilizada em materiais, principalmente em materiais biológicos como, suplemento para a diferenciação em vitro

de células adultas mesenquimais de osteoblastos[44], “scaffold” esponjoso biodegradável de poliuretano (lisina-di-isocianato e glicerol) para regeneração óssea[44], funcionalização do polímero PMMA, polimetilmetacrilato, através de síntese enzimática, onde foi possível deixar intactas as hidroxilas responsáveis por sua atividade biológica, sendo constatado que este material era capaz de modular a proliferação e diferenciação da osteogêneses[45].

Também são descritos na literatura polímeros de carboxi-metil-celulose[46] e vinilbenzoato[47] utilizando ácido ascórbico na estrutura. Porém não há relatos de polímeros biodegradáveis feitos a partir de biomassa utilizando catálise enzimática na literatura.

Ácido azelaico:

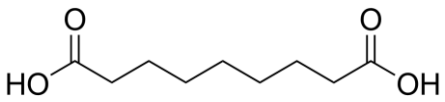

Figura 8 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Azelaico

Encontrado naturalmente no trigo, centeio e cevada. O ácido azelaico é um ácido di-carboxílico saturado que atua em diversos processos biológicos incluindo anti-bacterial, anti-inflamatório e agente anti-oxidante e anti-proliferativo de radicais livres[48].

É utilizado em vários distúrbios da pele, sendo muito eficaz no tratamento da acne e também como estimulante para o crescimento de cabelo, atuando como bactericida reduzindo o crescimento de bactérias no folículo piloso.

Vários polímeros foram sintetizados com azelato, porém nenhum utilizando monômeros provenientes de biomassa, e na grande maioria dos casos utilizando catalisadores metálicos. Alguns destes polímeros sintetizados são:

- Copolímero de ácido azeláico, anidrido o-ftalico e trimetilpropano[49].
- Poli(propileno azelato) utilizando tetrabutoxi titânio como catalisador obtendo M_n=25.000 g/mol[50].
- Poli(butileno oxalato) funcionalizado com butileno azelato utilizando tetrabutoxi titânio como catalisador, obtendo M_n=8.000 g/mol[51].
- Poli(butileno succinato co-butileno azelato) catalisado por titânio tetraisopropoxido[52].
- Copolímero de ácido acetobenzoico, diacetato de hidroquinona e ácido azelaico.
- poli(ácido azelaico) via catálise enzimática, utilizando octanodiol, obtendo massa molar de 5.800 g/mol[24].
- Poli(tetrametileno azelato)[53]
- Poli(etileno azelato)[54]
- Poli(nanometileno azelato) e o copolímero poli(nanometileno azelato co-pimelato) ambos utilizando o catalisador tetrabutoxi titânio obtendo massa molar de 38.500 g/mol[55].
- Poli(hexileno azelato)[56].
- Poli(4,4-bifenileno azelato)[57].
- Poli(dietil azelato)[58].
- Poli(neopentileno azelato)[59].
- Poli(etileno tereftalato co-azelato)[60].
- Poli(decametilenoglicol azelato)[61].

É possível perceber que a grande maioria dos polímeros sintetizados utilizando azelato não são utilizados para fins biológicos, devido aos monômeros utilizados não serem reconhecidos como próprios para uso em humanos, além de não serem biodegradáveis, e tão pouco provenientes de fonte de matéria renovável, apear desta molécula de interesse possuir atividade biológica, não sendo dada a devida atenção a este aspecto.

O objetivo para esta molécula no trabalho é de sintetizar materiais contendo azelato, cujos monômeros utilizados sejam provenientes de fonte de matéria renovável, e aprovados para uso em humanos, assim podendo ser explorado o potencial da atividade biológica da molécula de interesse.

Ácido Pantotênico (Vitamina B5):

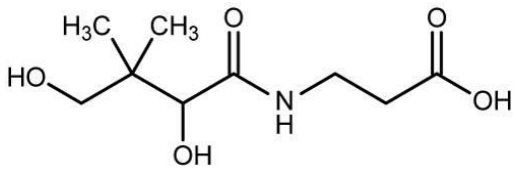

Figura 9 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Pantotênico

O ácido pantotênico, conhecido como vitamina B5 é essencial para todos os tipos de vida, é encontrado em células vivas na forma de coenzima A e participa de uma serie de reações químicas celulares. Atua na produção dos hormônios supra-renais, e na formação de anticorpos.

Não há relatos na literatura de materiais poliméricos sintetizados utilizando o ácido pantotênico.

Pantenol (Provitamina B5):

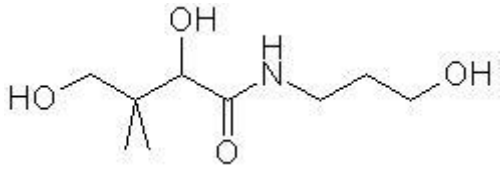

Figura 10 - Ilustração da Estrutura Química do Pantenol

Precursor do ácido pantotênico que age como agente eutrófico da pele e mucosas. Sua deficiência pode significar descamação e despigmentação cutânea.

É muito utilizado na indústria da saúde e cosméticos, é um ingrediente comum em suplementos multivitamínicos, shampoos e produtos para pele. É administrado em altas doses para humanos (15g por dia para tratamento de lúpus) sem efeitos adversos[62].

O pantenol é um agente anti-microbiano para várias doenças, ele atua através de competição com o ácido pantotênico (vitamina B5) em um dos passos da síntese da coenzima A, essencial para o funcionamento celular, 4% de todas as enzimas conhecidas utilizam a coenzima A como cofator para seu funcionamento.

O pantenol assim como seu análogo pantoiltalrina possuem a capacidade de atravessar a membrana celular, o que outros análogos da coenzima A não podem, fazendo desta molécula um excelente agente antimicrobiano[63].

Já são conhecidos e estudados tratamentos eficazes utilizando pantenol no combate à malária[64] e a tuberculose[63].

Como no caso do ácido pantotênico, não são relatados na literatura polímeros utilizando pantenol.

Ácido Adípico

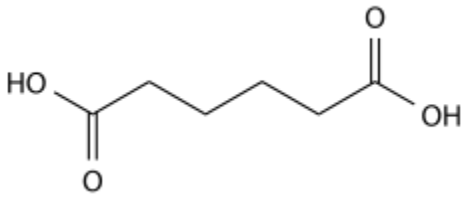

Figura 11 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Adípico

O ácido adípico é um intermediário utilizado na indústria química, farmacêutica alimentícia e de perfume[65].

Uma grande parte da produção de ácido adípico vai para a produção do nylon 6.6 especialmente via condensação com hexametilenodiamina, e o nylon 4.6, poli(tetrametileno adipamida), com alta massa molar, sendo adequado para aplicação onde são necessárias alta resistência a temperaturas elevadas e excelentes propriedades mecânica, como na indústria automotiva e eletrônica[65].

O ácido adípico também é utilizado na indústria como plastificantes (3%), poliuretanos (5%) e cerca de 90% é utilizado na fabricação de PVC (cloreto de polivinila), adesivos naturais e sintéticos, derivados de poliestireno e celulose, e óleos lubrificantes sintéticos[65].

O ácido adípico é aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) e pode ser utilizado como substituto para os ácidos, cítrico e tartárico, muito utilizados como aditivos acidulantes em alimentos[65].

Muitos polímeros são encontrados na literatura utilizando ácido adípico como monômero:

- Poli(celulose adipato)[66].
- Poli(hexametileno diamino co-adipato)[67].
- Poli(dietileno triamina co-adipato)[68].

- Poli(butanodiol co-adipato) utilizando $Ti(OBu)_4/TiO_2$-Al_2O_3 como catalisador obtendo massa molar de M_n= 3.000 g/mol[69].
- Poli(benziloxilglicerol co-adipato) utilizando $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ como catalisador[70].
- Poli(L-ácido láctico co-adipato) síntese realizada em massa[71].
- Poli(metilamino etanol co-adipato)[72].
- Poli(ricinoleato co-adipato) síntese realizada em massa[73].
- Poli(ácido láctico co-adipato) sintetizado utilizando octanoato de estanho através de polimerização por abertura de anel, obtendo M_w= 3800 g/mol[74].
- Poli(adipato glicol)[75].
- Poli(oxidietileno uretano co-adipato)[76].
- Poli(exanodiol ftalato co-adipato)[77].
- Poli(butileno succinato co-adipato)[78].
- Poli(propanotriol co-adipato) através de síntese em massa[79].
- Poli(dietil pentametileno adipato) e Poli(pentametileno glicol co-adipato) obtendo média de M_n= 2000 g/mol[80].
- Poli(adipato de isosorbila)[81]

O ácido adípico é muito utilizado em sínteses poliméricas em geral, onde também são utilizados em biomateriais como o poli(anidrido adípico) que é um polianidrido alifático de rápida degradação e erosão superficial, e vem sendo útil na utilização de liberação de fármacos ocular, sendo biocompatível e degradável por simples hidrólise, sendo sintetizado por polimerização através de abertura de anel[82].

Assim sendo uma molécula de comprovada eficácia na utilização em biomateriais, como é o foco deste trabalho.

Ácido Ricinoleico:

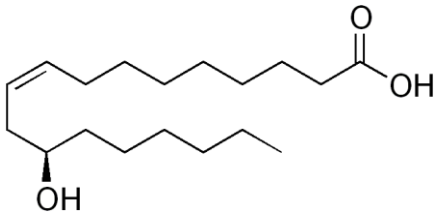

Figura 12 - Ilustração da Estrutura Química do Ácido Ricinoleico

O ácido ricinoleico é um ácido graxo comum com 18 carbonos (C18) com uma instauração no 9º carbono (*cis*), ômega 9, e uma hidroxila no 12º carbono, é produzido a partir da hidrolise do óleo de mamona.

O ácido ricinoleico é utilizados desde o antigo Egito em feridas dérmicas, como laxativo utilizado no tratamento de constipação e utilizado como tratamento tópico para enxaqueca[83].

poliricinoleato de poliglicerol é utilizado como aditivo na indústria alimentícia e cosmética como substituto da manteiga de cacau, sendo que sua propriedade como estabilizador de emulsão lhe confere utilidade em muitas aplicações, este material é sintetizado[84], via catálise enzimática.

O polímero poli(ácido ricinoleico) poli(glicerol) é um ingrediente comum em misturas de bolo, sobremesas, utilizado com redutor de viscosidade em chocolates e comumente utilizado como lubrificantes em formas e assadeiras na cozinha[85].

Estudos indicaram que aplicação tópica de ac. ricinoleico apresenta uma notável ação analgésica e anti-inflamatória[86], sendo também utilizado em aplicações orais, intranasal, epidural, intrarretal, parenteral e intravenosa em humanos e animais, sendo utilizado pra tratamento de diversas doenças[87].

São encontrados na literatura diversos polímeros utilizando ácido ricinoleico como monômero, alguns destes são:

- Poli(ácido ricinoleico maleato co-sebasico)[88].

- Poli(sebacato co-ácido ricinoleico) utilizado como implante biodegradável e biocompatível, sintetizado em massa, obtendo M_w=21.000 g/mol[89].
- Oligômeros de ácido ricinoleico com ácidos graxos a partir de síntese enzimática[90 91].
- Copolímero de ácido ricinoleico com ácido biliar através de polimerização por abertura de anel[92].
- Poli(ácido láctico co-ácido ricinoleico) biodegradável sintetizado através de polimerização por abertura de anel em massa, obtendo massa molar entre 3.000 a 13.000 g/mol[93].
- Poli ácido ricinoleico obtendo massa molar de M_w= 5.600 g/mol a partir de lactona do ácido ricinoleico[94], a partir de pentaeritritol[85] obtendo polímeros estrela, sintetizado a partir de síntese enzimática[22 85], onde também são relatados polímeros de alta massa molar M_w= 98.000 g/mol[25].

Observa-se que todos os materiais sintetizados com ácido ricinoleico possuem um foco biológico, sendo o objetivo principal a utilização das atividades pertencente a esta molécula.

Observa-se também que existem muitos materiais sintetizados via catálise enzimática, sendo assim uma área bem explorada e de eficácia comprovada, sendo assim útil na orientação dos métodos de síntese utilizada neste trabalho.

2 - Objetivos

O objetivo deste trabalho é sintetizar materiais poliméricos a partir de monômeros provenientes de biomassa (matéria renovável) e inserir nestes materiais moléculas bioativas, que poderão vir a serem utilizados como matérias para fins biológicos.

Além disso, buscou-se também sintetizar estes materiais a partir de síntese via catálise enzimática, garantindo assim maior segurança ao material quanto a possíveis agentes tóxicos que poderiam contaminar o material utilizando síntese via catálise convencional.

3 - Materiais e Métodos

Materiais

Monômeros

- Isosorbídeo (1,4:3,6-dianidro-D-sorbitol) 99% (Sigma-Aldrich e Cerestar)
- Adipato de dietila (1,6-hexanodioato de dietila) 99% (Sigma-Aldrich)
- Ácido adípico (Ácido 1,6- hexanodióico) 99% (Sigma-Aldrich)
- Cloreto de adipoila (1,6-dicloreto de hexanoila) 99% (Sigma-Aldrich)
- Azelato de dietila (1,9-nonanodioato de dietila) 99% (Sigma-Aldrich)
- Ácido azelaico (Ácido 1,9- nonanodióico) 99% (Sigma-Aldrich)
- Pantenol ((+)-(R)-2,4-dihidroxi-(3-hidroxipropil)- 3,3-dimetilbutanamida) 98% (Sigma-Aldrich)
- Ácido pantotênico (ácido3-[(2R,4-dihidroxi-3,3-dimetilbutanoil) amino]propanoico) 98% (Sigma-Aldrich)
- Ácido ascórbico (3-oxo-L-gulofuranolactona (5R)-5-[(1S)-1,2-diidroxietil]-3,4-diidroxifurano-2(5H)-ona) 98% (Sigma-Aldrich)
- Glicerol (propano-1,2,3-triol) 98% (Sigma-Aldrich)
- Pantolactona ((3R)-3-hidroxi-4,4-dimetiloxolan-2-ona) 98% (Sigma-Aldrich)
- Ácido ricinoleico (ácido 12 - hidroxi-9-cis-octadecenóico) 99% (Sigma-Aldrich)

Solventes

- Clorofórmio P.A. (Synth e Vetec)
- Cicloexano (Merck)
- Tolueno (Merck)
- Dioxano (J.T. Baker)
- THF (Carbo Erba)
- Metanol P.A. (Synth)
- Etanol P.A. (Synth)
- t-butanol (Synth)
- Hexano (Synth e Vetec)
- Acetato de etila (Synth)

- Clorofórmio deuterado (Sigma-Aldrich)

Outros Reagentes

- Ácido sulfúrico (Synth)
- Piridina (Sigma-Aldrich)
- Triidroxiantraceno (ditranol, Sigma-Aldrich)
- Iodeto de sódio P.A. (Casa Americana)
- Pentóxido de fosforo anidro (Sigma-Aldrich e Vetec)
- Cloreto de cálcio anidro P.A. (Synth)
- Bicarbonato de sódio P.A. (Synth)
- Sulfato de sódio (J.T. Baker)
- Magnésio metálico (Sigma-Aldrich)
- Sódio metálico (Sigma-Aldrich)
- Iodo (Casa Americana)
- Enzima CAL-B (Novozym-435)
- Peneira molecular de 4Å (Sigma-Aldrich)

Equipamentos

MALDI-ToF (Espectrometria de Massa)

As análises feitas por MALDI-TOF-MS foram realizadas no equipamento Ettan MALDI-TOF da Amersham Biosciences. O espectrômetro de massas é equipado com um laser de N_2 (337nm) e um campo elétrico de aceleração de íons de 20kV. A detecção dos íons positivos foi feita no modo linear e o espectro de massas é o resultado de 200 pulsos de laser.

As amostras de MALDI-TOF foram preparadas a partir de 10 mg/ml da amostra, 10 mg/ml da matriz dithranol e 5 mg/ml de NaI em clorofórmio/THF (1:1). Alíquotas de 10µL da amostra, 25-80 µL da matriz e 3-8 de NaI foram misturadas. Então 0,5 µL das

misturas foram adicionadas nos portas-amostras (spots), com volumes internos de 0,5 µL, e deixados secar ao ar antes dos ensaios.

RMN (Ressonância Magnética Nuclear)

Análises feitas por ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas utilizando o equipamento INOVA-300 e GEMINI-200 da central analítica do IQ-USP.

SEC (Cromatografia por Exclusão de Tamanho)

Medidas de massa molar média ponderal (M_w), massa molar média numérica (M_n) e índice de polidispersão (PD) foram feitas com cromatografia por exclusão de tamanho (SEC) em um cromatógrafo Shimadzu modelo Class-VP 10A, equipado com detector de índice de refração RID-10A com a cela a 35ºC forno CTO-10A a 35ºC, loop de 20µL, bomba LC-10AD, com fluxo de 1mL por minuto.

Foram utilizadas quatro colunas tipo Styragel® HR6 (WAT054468), HR4 (WAT044225), HR3 (WAT044222), e HR1 (WAT04234). A fase móvel utilizada foi clorofórmio. Os valores de massas molares foram reportados com relação a padrões de poliestireno (com M_w= 820, 2460, 5120, 13200, 29300, 47500 e 216000), que foram utilizadas na construção de curvas de calibração. A concentração das amostras injetadas foi de aproximadamente 20 mg/mL.

CG-MS (Cromatografia Gasosa)

Análises por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas foram realizadas no laboratório de selênio e Telúrio no IQ-USP, em um aparelho da marca SHIMADZU CG-MS-17A/QP5050A. O gás de arraste utilizado foi o gás hélio e a coluna de sílica fundida revestida com goma de poli SPB-35 (35% difenil / 65%

dimetilsilicone). A rampa de aquecimento foi: temperatura inicial 100ºC, gradiente de 10ºC/min e temperatura final: 250ºC.

Purificação dos Reagentes e Solventes

A purificação do glicerol foi realizada através de uma destilação a vácuo, a temperatura de 160ºC e pressão de 5torr.

A purificação do ácido azelaico foi realizada através da recristalização em água, seguida de secagem por destilação azeotrópica, utilizando Dean Stark, e tolueno como solvente.

O ácido adípico foi purificado através de recristalização em solução de etanol:água, 2:1, e seco em um dessecador sob vácuo por 24 horas.

O isosorbídeo foi purificado através de recristalização em acetato de etila e seco em um dessecador com P_2O_5, sob vácuo por 72 horas, e armazenado neste mesmo dessecador. As verificações de pureza do isosorbídeo e do ácido azelaico foram feitas através de análise de cromatografia gasosa.

O cicloexano e tolueno, utilizados nas sínteses enzimáticas, foram purificados através de: (i) secagem com $CaCl_2$ anidro por 24h, seguido (ii) destilação; (iii) secagem com refluxo em P_2O_5; (iv) destilação e (v) estocagem com peneira molecular de 4Å.

Clorofórmio foi purificado através da secagem com Na_2SO_4 anidro por 24h, refluxo em P_2O_5 e destilado.

O acetato de etila foi purificado através de secagem com $CaCl_2$, em seguida refluxado com P_2O_5, e estocado em peneira molecular de 3Å.

O t-butanol foi purificado através da secagem com sulfato de sódio anidro, refluxo com magnésio ativado e iodo e por final destilado.

A enzima CAL-B foi gentilmente cedida pela Novozym do Brasil, e utilizada sem tratamento prévio.

As peneiras moleculares de 3 e 4Å foram previamente ativadas em uma mufla por 6 horas a uma temperatura de 300ºC.

Os monômeros, azelato de dietila, adipato de dietila, pantenol, ácido cítrico, ácido ascórbico, pantolactona e ácido ricinoleico foram utilizados sem tratamento prévio.

Síntese dos Diésteres

As esterificações das moléculas de interesse que continham grupos ácidos foram feitas através de um protocolo padrão. Misturando em um balão 70 mmol do diácido de interesse com excesso de 700 mmol de etanol anidro, em seguida adicionou-se ácido sulfúrico à solução até a solubilização, sendo utilizados 50 mL de hexano como solvente, a mistura final foi refluxada durante 30 minutos, e ao final da reação a mistura foi resfriada naturalmente, lavada com uma solução concentrada de bicarbonato de sódio, onde houve a formação de uma solução bifásica, estas foram separadas com funil de separação e a fase aquosa foi lavada com hexano por três vezes em alíquotas de 30mL do hexano por cada lavagem. As fases orgânicas foram misturadas, secas com sulfato de sódio, e concentradas no rotoevaporador.

Os ésteres sintetizados a partir deste protocolo eram provenientes dos ácidos adípico, azelaico, cítrico, pantotênico e ricinoleico. Porém não foi obtida a esterificação dos dois últimos.

Todas as caracterizações de monômeros foram feitas através de CG-MS, assim como verificações de pureza dos compostos utilizados, sendo utilizada também

caracterização por ponto de fusão em compostos cristalinos, como no caso do isosorbídeo.

As primeiras sínteses de polímeros realizadas neste trabalho foram feitas a partir dos ésteres dos monômeros sintetizados como descrito acima, porém logo foram substituídos por monômeros comerciais, que eram utilizados sem tratamento prévio por possuírem pureza de 99%, não sendo observadas mudanças nos produtos finais após a substituição dos monômeros sintetizados para os monômeros comerciais. Contudo apenas os monômeros de adipato e azelato possuíam a necessidade de esterificação, os demais monômeros ácidos tiveram sínteses frustradas de esterificação e não foram utilizadas nas sínteses poliméricas.

No caso do ácido cítrico, não foram utilizados monômeros comerciais, e por haver a probabilidade de formação de diferentes produtos na esterificação desta molécula, além da caracterização por CG-MS também foi realizada a caracterização utilizando RMN-^{1}H.

A esterificação do ácido pantotênico foi estudada através de vários métodos de síntese, inicialmente utilizando o mesmo procedimento para obtenção de diésteres descrito acima, seguido por procedimentos utilizando cloreto de tionila onde foi colocado um balão 70 mmol de ácido pantotênico e excesso de cloreto de tionila, aproximadamente 5 mL, sendo a reação realizada durante seis horas a 80°C sob vácuo para facilitar a retirada do subproduto Cl_2 e SO_2, em seguida foi adicionada a reação excesso de etanol, porém não foram obtidos resultados positivos.

Foi utilizada também síntese de esterificação utilizando uma mistura de 50mL de etanol como solvente com 70 mmol de ácido pantotênico, utilizando ácido sulfúrico em quantidade catalítica, cerca de 1mL, e a reação realiza em um balão imerso em um banho de silicone a 80°C por 30 min. Porém não foram obtidos resultados positivos.

A molécula de ácido ricinoleico foi submetida às mesmas sínteses realizadas com o ácido pantotênico, porem também não foram obtidos resultados positivos.

Sínteses dos Polímeros

Os materiais sintetizados neste trabalho seguiram inicialmente um protocolo padrão de síntese, onde este protocolo sofreu algumas alterações em alguns procedimentos devido a necessidade da molécula de interesse, como a adição de um solvente mais polar quando utilizado uma molécula de interesse mais polar. Nestes casos estas alterações são evidenciadas separadamente à medida que as moléculas são apresentadas a seguir.

Inicialmente estipulou-se uma quantidade padrão de material utilizado nas sínteses poliméricas, que foi de 7mmol de cada molécula de interesse utilizada, sendo para um homopolímero utilizados 7 mmol do diácido para 7 mmol do dialcool em uma proporção de 1:1. Em sínteses de copolímeros a porcentagem de substituição foram baseadas nas quantidades de mols de cada monômero, utilizando como exemplo o copolímero poli(adipato de isosorbila co-glicerol) 10%, foi utilizado para síntese, 7mmol de adipato, 6,3mmol de isosorbídeo e 0,7mmol de glicerol, assim o glicerol substitui 10 % da quantidade em mols que o isosorbídeo teria no polímero base poli(adipato de isosorbila).

A mistura padrão de solventes utilizada para as sínteses poliméricas continha seis partes de cicloexano para uma parte de tolueno, sendo utilizado 60mL desta mistura para cada síntese.

Foram utilizados recipientes especiais para sínteses poliméricas, sendo estes, cilíndricos de fundo chato, onde foram colocados os reagentes, e neste recipiente foi

acoplado um Deam Stark com peneira molecular de 4Å para retenção do subproduto etanol liberado após a condensação polimérica, proveniente do diéster utilizado como monômero na reação, ao Deam Stark foi acoplado um condensador e ao condensador um tubo secante.

Como catalisador das reações foi utilizado a enzima CAL-B, sendo utilizado uma massa equivalente a 10% da massa total dos monômeros utilizada.

A mistura de reagentes, solventes e o catalizador foi adicionado de uma só vez ao frasco de reação, sendo homogeneizada com agitador magnético em banho de silicone a uma temperatura de 85ºC, por um período de 7 dias, onde a cada 24 horas as peneiras moleculares eram substituídas por novas peneiras ativadas para não haver uma saturação do etanol retido.

A temperatura utilizada na reação é a temperatura mais alta possível para utilização da CAL-B, a partir desta temperatura a eficiência da enzima é diminuída rapidamente até sua desnaturação. Esta temperatura é utilizada por ser a temperatura ideal para a destilação azeotrópica da mistura de solventes e o etanol, subproduto da reação, sendo essencial sua remoção do meio reacional para deslocar o equilíbrio da reação enzimática para reações de esterificação, sendo observado que esta temperatura funciona muito bem para a polimerização das amostras estudadas neste trabalho.

Após os 7 dias, a solução final foi passada para um balão de 250ml e colocada em um rotoevaporador, o material precipitado que permaneceu no tubo de reação foi diluído em clorofórmio com agitação magnética e logo em seguida misturado à solução que estava no rotoevaporador, após unida ambas as partes, a solução total foi filtrada para remoção da enzima e logo em seguida retornada para o balão e rotoevaporador para a concentração da amostra.

Cessada a evaporação do solvente no rotoevaporador, a solução final foi diluída em 3ml de clorofórmio e pipetada em um béquer com aproximadamente 20ml de metanol para que houvesse a precipitação do polímero. Após a precipitação, o metanol foi descartado e o polímero precipitado no béquer foi expandido em um dessecador ligado a uma bomba de vácuo por 24h.

Após a expansão do polímero este foi colocado em uma estufa a vácuo para a remoção completa do solvente remanescente por mais 24h a 45ºC.

Um resumo do esquema das reações pode ser visto na figura a baixo:

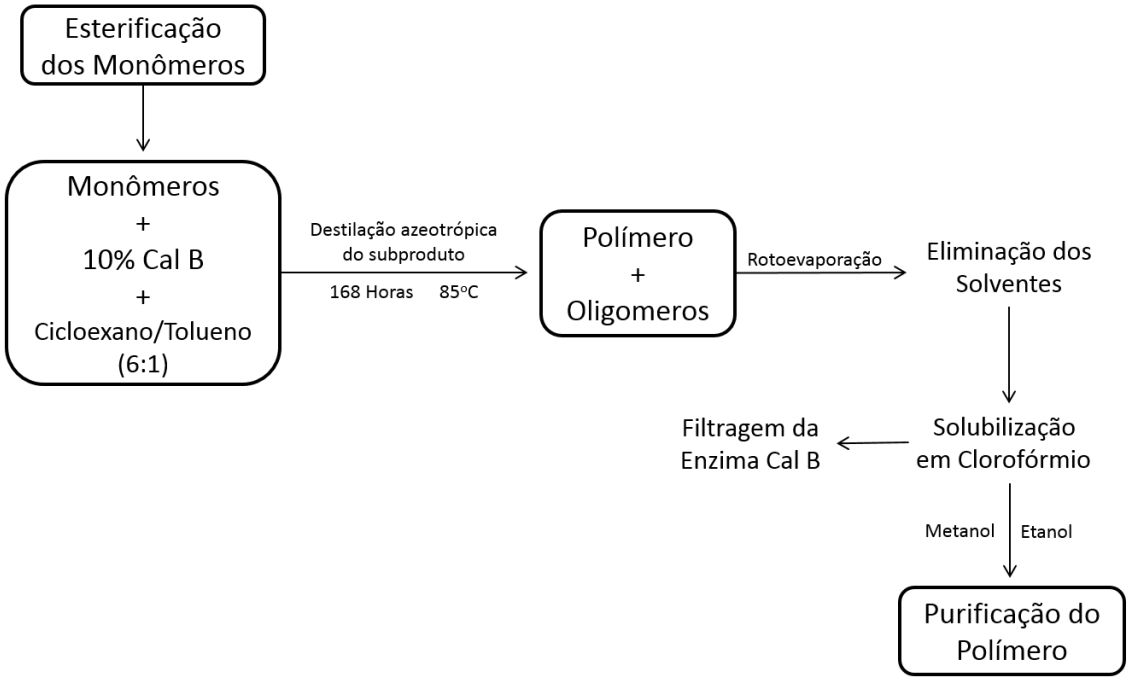

Figura 13 - Esquematização da síntese de polimerização dos novos materiais

A incorporação das moléculas de interesse farmacológico ao poli(adipato-de-isosorbila) (PIA) foi feita através de três abordagens distintas: (i) através da substituição de parte de um dos monômeros do PIA, já polimerizado, pela molécula de interesse, utilizando reação de transesterificação, (ii) através de polimerização a partir dos

monômeros do PIA mais a molécula de interesse, (iii) e a partir da substituição total de um dos monômeros do PIA, formando um homo polímero distinto.

Estas reações são demonstradas esquematicamente através da figura a baixo, onde são demonstradas reações genéricas para cara tipo de reação realizada no trabalho.

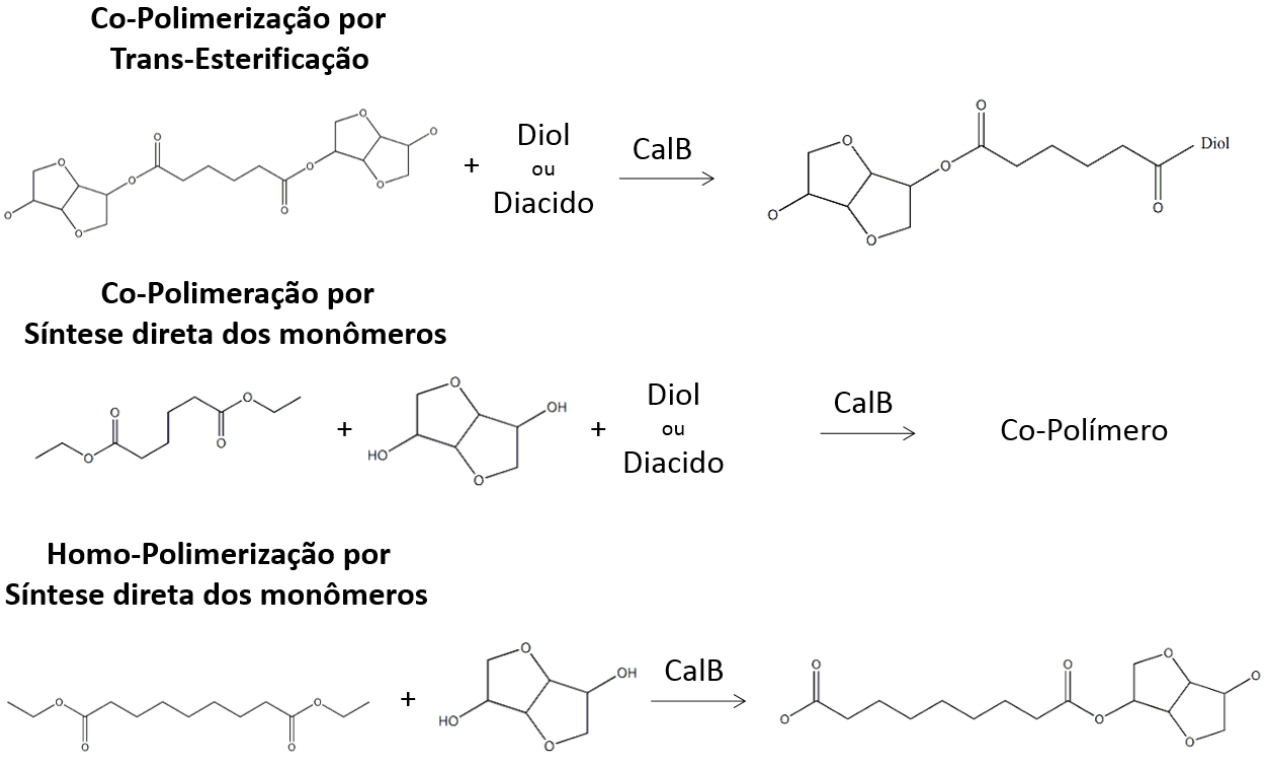

Figura 14 - Tipos de reações realizadas nas polimerizações dos novos materiais

Foram exploradas diversas combinações de sínteses entre as moléculas de interesse, onde foram obtidos diversos materiais contendo mais de uma molécula de interesse, essas combinações são demonstradas na figura a baixo.

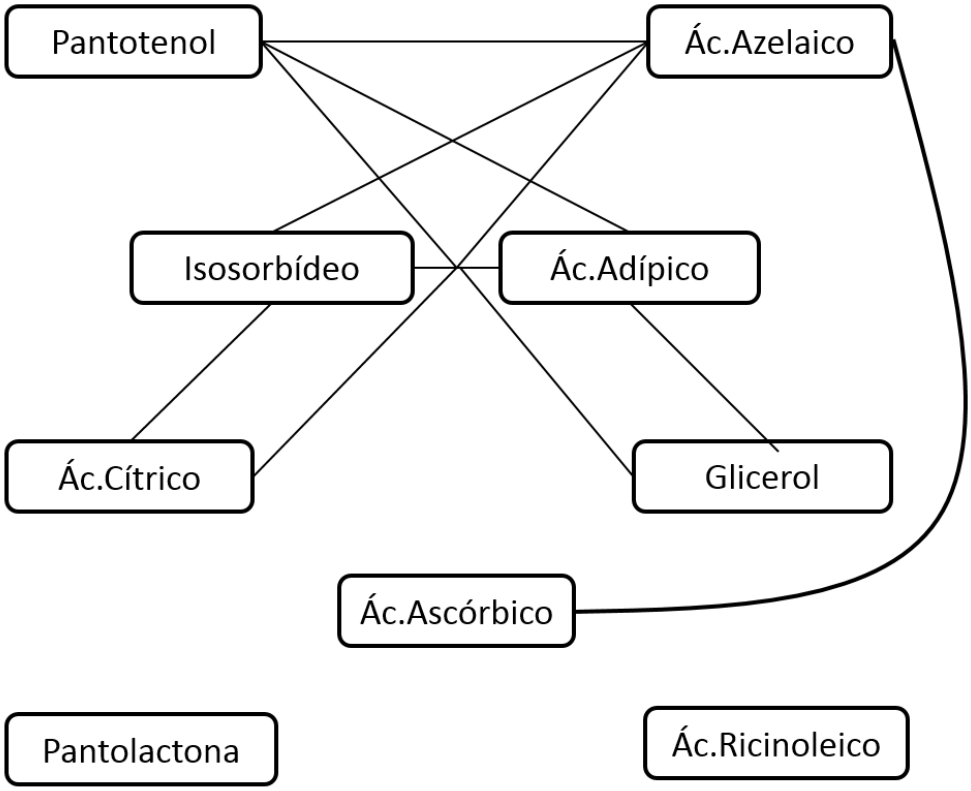

Figura 15 - Combinações realizadas entre as moléculas de interesse

Não houve cruzamento de reações utilizando as moléculas de ácido ricinoleico e ácido pantotênico devido a problemas na síntese de seus ésteres, portanto somente foi utilizado o isosorbídeo como monômero complementar envolvendo estas moléculas.

No caso da pantolactona, o objetivo era somente sintetizar um homopolímero deste material, a polipantolactona, portanto também não foram estudadas reação cruzadas com esta material.

Copolimerização Utilizando Glicerol

As amostras funcionalizadas com glicerol foram sintetizadas utilizando as três formas de funcionalização.

Utilizando síntese através da transesterificação do PIA, foram sintetizadas as amostras G1, G2 e G4, substituindo 70, 5 e 30% respectivamente do isosorbídeo por glicerol, sendo que na amostra G4 foi sintetizada utilizado clorofórmio como solvente, devido à baixa solubilidade do polímero à mistura de solvente, porém não foram obtidos resultados positivos.

Nos casos de sínteses de transesterificação do polímero PIA já sintetizado, também foi utilizada uma quantidade padrão de reagentes, como no protocolo, porem uma quantidade em mols bem inferior aos utilizados em monômeros por se tratar de macromoléculas, estes casos foram utilizados 0,5 mmol do PIA em cada síntese, e utilizando como exemplo as amostras G1, G2 e G4, foram utilizados respectivamente 0,35, 0,025 e 0,15 mmol de glicerol para a síntese destas amostras.

Amostras sintetizadas através de síntese direta dos monômeros foram as que obtiveram os melhores resultados, onde a mais bem sucedida destas foi a amostra G3 onde foram utilizados 7 mmol de adipato de dietila, 6,3 mmol de isosorbídeo e 0,7 mmol de glicerol, assim objetivando a adição de 10% do glicerol ao PIA; nesta amostra foi utilizado o protocolo padrão de síntese sem alterações, outras amostras sintetizadas utilizando a síntese direta dos monômeros também tiveram resultados positivos.

Também foram realizados estudos de polimerização de homopolímeros contendo glicerol, onde foram sintetizadas amostras contendo os monômeros glicerol e adipato, porém não foram obtidos resultados satisfatórios.

Foram realizados estudos com diferentes solventes para sínteses utilizando glicerol, devido a diferença de polaridade desta molécula de interesse com os demais monômeros utilizados no polímero, os solventes escolhidos foram o t-butanol e o dioxano, o primeiro por ser um solvente mais polar que o cicloexano e o tolueno e que

não interferisse na reação, e o segundo utilizado devido relatos na literatura de sínteses bem sucedidas utilizando glicerol e dioxano[36].

A proporção escolhida para adição destes solventes polares foi de 10% do volume total da mistura de solventes, como no protocolo padrão são utilizados 60 mL de solvente, assim foram adicionados 6 mL do solvente polar ao meio reacional. A baixa porcentagem de adição de solvente polar foi devido a baixa porcentagem do glicerol no meio reacional, com um aumento muito grande do caráter polar da reação os outros monômeros em maior quantidade poderiam ser afetados, portanto não havendo a necessidade de uma grande adição de solvente polar ao meio. Apesar de terem sidas estudadas varias sínteses utilizando estes solventes polares, não foram obtidos resultados satisfatórios, e assim não serão apresentados neste trabalho.

Foram realizados testes utilizado somente dioxano como solvente, e o protocolo padrão, sendo guiado por experimentos descritos na literatura [36], onde são sintetizados polímeros contendo glicerol utilizando dioxano como solvente, porém não foram obtidos resultados positivos.

Funcionalização com Azelato

As amostras funcionalizadas com azelato também foram sintetizadas utilizando os três tipos de funcionalizações empregadas neste trabalho, porém não foram obtidos resultados satisfatórios para sínteses através da transesterificação do PIA já sintetizado.

Na síntese a partir dos monômeros foi obtido resultado positivo com a amostra Az3, que buscava inserir 10% de azelato à amostra, onde foram utilizados 6,7 mmol de adipato de dietila, 7 mmol de isosorbídeo e 0,7 mmol de azelato de dietila, seguindo o protocolo padrão de síntese.

Utilizando a molécula de azelato foi possível sintetizar dois novos homopolímeros, um utilizando 7 mmol de azelato de dietila e 7 mmol de isosorbídeo e outro utilizando 7 mmol de azelato de dietila e 7 mmol de pantenol, ambos polímeros inéditos na literatura e ambos com atividade biológica.

Funcionalização com Citrato

As amostras funcionalizadas com citrato também foram sintetizadas utilizando os três tipos de funcionalizações empregadas neste trabalho.

Como no caso do glicerol foram realizados ensaios utilizando adição dos mesmos solventes polares ao meio reacional e substituições totais dos solventes, e como nas amostras de glicerol, não foram obtidos resultados positivos, sendo que as amostras sintetizadas seguindo o protocolo padrão apresentaram melhores resultados.

Na síntese da amostra Ct2, sintetizada a partir da transesterificação do PIA, foi utilizado clorofórmio como solvente, buscando uma melhor solubilização do PIA já polimerizado no meio reacional, nesta síntese foram utilizados 0,13 mmol de citrato de trietila a 0,37 mmol do polímero, ou seja, buscando substituição de 35% do ácido adípico do polímero por ácido cítrico, porém não foram obtidos resultados positivos.

Utilizando sínteses a partir dos monômeros foram obtidos os melhores resultados, como no caso da amostra Ct1 que foi sintetizada utilizando 0,67 mmol de adipato de dietila, 0,7 mmol de citrato de trietila e 7 mmol de isosorbídeo, buscando substituição de 10% do adipato do polímero por citrato.

Nota-se nas amostras de citrato e também do glicerol que buscava-se uma polimerização utilizando apenas os dois grupos ácidos terminais no caso do citrato e dois álcoois terminais no caso do glicerol, pois foram utilizadas proporções de substituição de 1:1 da molécula de interesse e a molécula a ser substituída no polímero,

se fosse esperar a síntese utilizando os três grupos ácidos do citrato seria utilizada uma proporção um terço menor do que a utilizada nas sínteses.

Nas sínteses de homopolímeros foram sintetizados mais dois polímeros inéditos, um contendo citrato e isosorbídeo, utilizando 7 mmol de citrato de trietila e 7 mmol de isosorbídeo, e outro contendo citrato e pantenol, utilizando 7 mmol de citrato de trietila e 7 mmol de pantenol, porem este último foram só obtidos trímeros do material.

Funcionalização com Pantenol

Nas funcionalizações com pantenol, não foram realizadas transesterificações a partir do PIA já sintetizado, somente síntese a partir dos monômeros e síntese de homopolímeros com adipato e outras moléculas de interesse do trabalho, como azelato e citrato, motivado pela falta de resultados satisfatórios em sínteses envolvendo outras moléculas de interesse.

Em sínteses buscando copolímeros de pantenol, a amostra Poc1foi sintetizada utilizando 7 mmol de adipato de dietila, 6,7 mmol de isosorbídeo e 0,7 mmol de pantenol, buscando substituição de 10% do isosorbídeo por pantenol, através da síntese direta dos monômeros, seguindo o protocolo padrão do trabalho.

Em sínteses buscando homopolímeros foram sintetizados três materiais inéditos, além do copolímero citado acima. Estes homopolímeros foram sintetizados utilizando 7 mmol de pantenol e 7 mmol de adipato de dietila, outro sintetizado utilizando 7 mmol de pantenol e 7 mmol de citrato de trietila e o melhor polímero sintetizado nesse trabalho sintetizada utilizando 7 mmol de pantenol e 7 mmol de azelato. Todos seguindo o protocolo padrão adotado no trabalho.

Funcionalização com Ácido Ascórbico

Não foram realizados estudos de transesterificação do PIA envolvendo a molécula de ácido ascórbico.

Buscando síntese de copolímeros contendo ácido ascórbico foi sintetizada a amostra As1, utilizando 7 mmol de adipato de dietila, 6,3 mmol de isosorbídeo e 0,7 mmol de ácido ascórbico, buscando substituir 10 % do isosorbídeo do PIA por ácido ascórbico, porém não foram obtidos resultados positivos.

Foram sintetizados homopolímeros de ácido ascórbico, utilizando adipato e azelato separadamente, porem somente amostras sintetizadas com azelato deram resultados positivos, uma destas amostras foi a AsAz1, sintetizada utilizando 7 mmol de azelato de dietila e 7 mmol de ácido ascórbico, onde foi utilizado dioxano como solvente, e seguindo o protocolo padrão de síntese. Não foram obtidos resultados positivos utilizando a mistura padrão de solventes.

Funcionalização com Pantolactona

As amostras utilizando pantolactona foram sintetizadas de duas formas, utilizando síntese em massa, e sínteses em solução, ambas utilizando 14 mmol de pantolactona, onde o objetivo era o mesmo, de sintetizar um homopolímero de poli-pantolactona.

A amostra Pl1 foi sintetizada a partir da pantolactona em massa, adicionando em um balão a pantolactona e a enzima, sendo vedado o balão com um septo, e a reação realizada em um banho de silicone a 95°C, durante 5 dias.

A amostra sintetizada em solução foi denominada Pl2, e foi sintetizada em clorofórmio utilizando o mesmo procedimento da amostra Pl1.

Funcionalização com Ácido Ricinoleico

Na síntese utilizando ácido ricinoleico optou-se por uma síntese diferente devido à dificuldade em sintetizar o diéster deste composto.

Optou-se por realizar uma síntese inicial de um trímero do ácido ricinoleico para a formação de uma molécula com uma dupla funcionalização acida, e a partir de então realizar o protocolo padrão de síntese.

Para a síntese deste trímero foi utilizado 7 mmol de cloreto de adipoila e 3,5 mmol de ácido ricinoleico, ou seja uma proporção de 1:2 para a formação de um trímero com o adipato no meio da molécula e duas moléculas de ácido ricinoleico nas pontas. Para catalise desta reação foi utilizado 0,5 ml de piridina em utilizando 40 ml de THF como solvente, esta reação foi realizada em um balão vetado com um septo sob atmosfera inerte de nitrogênio, sendo realizada em um banho de silicone a uma temperatura de 70°C durante 24 horas.

Por final esperava-se a formação de um trímero, que em seguida seria polimerizado através do protocolo padrão ou utilizando trifosgênio, porém esta fase não seguiu a diante por não ter sido obtido o trímero como esperado.

4 – Resultados e Discussões

Caracterização dos Monômeros

Todos os monômeros sintetizados foram caracterizados através de CG-MS, sendo o ácido cítrico o único destes monômeros que não foi substituído por monômeros comerciais, desta forma necessitando de uma caracterização mais detalhada, porém não foram observadas alterações nos produtos finais quando feita a mudança dos monômeros sintetizados para os monômeros comerciais.

Desta forma o monômero de ácido cítrico também foi caracterizado por RMN-^{1}H onde ocorria a possibilidade de esterificação somente dos grupos ácidos primários deixando o grupo ácido secundário livre, bem como poderia ocorrer a esterificação de todos os grupos ácidos, assim a utilização do RMN-^{1}H serviu para uma melhor elucidação destes prováveis produtos finais.

Na figura a baixo é demonstrado um esquema da molécula de ácido cítrico, caso houvesse uma esterificação de todos os grupos ácidos da molécula

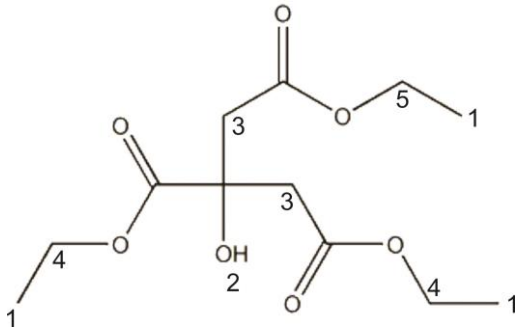

Figura 16 - Esquema da estrutura do citrato de trietila, com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 17

É possível observar que existem nesta molécula duas etilas terminais semelhantes e uma mais expostas à interações com oxigênios dos grupos ácidos adjacentes, o que acaba por proporcionar um deslocamento maior no RMN com relação

as outras etilas, o que é evidenciado na caracterização por RMN demostrada na figura a baixo.

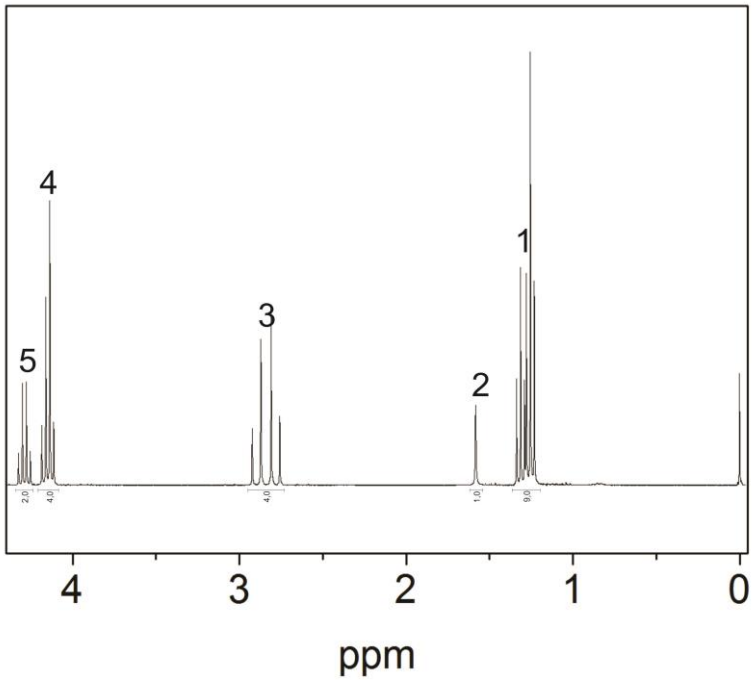

Figura 17 - RMN-^{1}H - Monômero Citrato de Trietila

O resultado obtido através do RMN-^{1}H, figura 17, indica a formação do produto citrato de trietila, devido ao aparecimento de um quadripleto a mais do que era esperado (picos de número 5), caso os três grupos ácidos fossem iguais, sendo este quadripleto bem resolvido, e de deslocamento maior que o quadripleto pertencente ao ácido cítrico puro, demonstrando uma diferença entre os grupos ésteres, como visto no esquema da figura 15, significando assim que houve a esterificação em todos os grupos ácidos, possibilitando desta forma o crescimento polimérico em qualquer ponta da molécula e assim podendo produzir produtos diferentes durante a polimerização desta molécula.

Neste trabalho somente foram realizadas sínteses dos monômeros que possuíssem grupos ácidos em suas estruturas, sendo o caso das moléculas de ácido adípico, ácido azelaico, ácido cítrico, ácido pantotênico e ácido ricinoleico.

Apesar de terem sido estudadas três formas de esterificação dos ácidos pantotênico e ricinoleico, não foi possível sintetizar de forma eficaz seus respectivos ésteres, pois caracterizações feitas por CG-MS indicaram clivagens internas nas moléculas do ácido pantotênico, devido provavelmente à presença de um grupo amida muito suscetível a reações, e no caso do ácido ricinoleico, não foram observados sinais da esterificação da molécula.

Desta forma nenhuma destas duas moléculas de interesse foram estudadas utilizando seus derivados esterificados, somente realizadas sínteses a partir das moléculas puras, porém como estudos realizados anteriormente já concluíam[81], a polimerização através de síntese enzimática utilizando moléculas com grupos ácidos não funciona, sendo necessária a esterificação destas moléculas para obtenção de bons resultados.

Caracterização das Amostras Poliméricas

Um dos objetivos principais deste trabalho foi a síntese de polímeros biodegradáveis e inertes em ambientes biológicos. Para tal, é importante a ausência de compostos tóxicos em sua síntese, o que não é comumente observado em sínteses poliméricas, já que em sua grande maioria são utilizados catalizadores metálicos, que são muito eficientes, porém podem oferecer risco caso existam traços destes no material final.

Portanto, além de selecionar um material ideal para aplicação em meios biológicos foi de suma importância selecionar o método de síntese, sendo que polímeros tendem a se enovelarem podendo enclausurar componentes da síntese do material, como o catalisador, solvente ou mesmo os subprodutos da reação.

Quando falamos de polímeros a principal matéria prima que vem à mente é o petróleo, de longe a matéria prima mais utilizada hoje em dia, o que não é bom no ponto de vista ambiental, por se tratar de uma matéria prima finita, e o produto final de difícil eliminação, por não ser natural ao meio ambiente, atrelando também os custos de produção as variações frequentes do mercado envolvendo essa matéria prima.

Portanto é de extrema importância a substituição por matérias primas alternativas ao petróleo, provenientes de fontes renováveis, que fossem de fácil degradação e atóxicos ao meio ambiente e ao homem, diminuindo desta forma o impacto ambiental gerado pelo uso de polímeros.

Desta forma, para este trabalho foi selecionado como polímero base para funcionalização o poli(adipato de isosorbila), um polímero que possui ambos os monômeros aprovados pelo FDA como seguro para utilização em seres humanos, sendo o isosorbídeo derivado da glicose, portanto proveniente de fonte renovável. Desta forma, os produtos de decomposição serão materiais inertes e inofensivos ao meio ambiente e ao ser humano.

O poli(adipato de isosorbila) foi satisfatoriamente sintetizado via catálise enzimática por Juais, D.[81], membro de nosso laboratório, sendo um material ambientalmente correto, sintetizado de forma branda, não utilizando catalizadores metálicos tóxicos, altas temperaturas e pressões, sendo realizado em apenas uma etapa, utilizando enzima, eliminando assim o risco de contaminação do material final com catalizadores metálicos.

Através de estudos preliminares realizados, chegou-se a um procedimento ideal de síntese deste material, que é através de refluxo em solvente orgânico (cicloexano:tolueno) utilizando a enzima CAL-B, sendo retirado o subproduto metanol através de peneira molecular em um *dean stark* por um período de sete dias. Ao fim da

síntese sua purificação é feita através de precipitação do polímero em um não solvente, seguida de várias lavagens do material com clorofórmio.

Um ponto muito importante nas sínteses realizadas é a utilização de ésteres como monômeros, pois durante a polimerização das amostras, o grupo álcool eliminado como subproduto da polimerização é retirado do meio via destilação azeotrópica sendo retido em peneiras moleculares adequadas, assim sendo necessária uma esterificação de todas as moléculas de interesse que possuíssem grupos ácidos em sua estrutura.

Estudos demostraram[81] que as polimerizações somente são bem sucedidas utilizando ésteres e retirando seus subprodutos no decorrer das reações.

Desta forma é crucial também para as polimerizações a realização de esterificações bem sucedidas das moléculas de interesse, sendo esse o motivo de eliminação das moléculas de ácido ricinoleico e ácido pantotênico da lista de materiais bem sucedidos, pois não foram obtidos ésteres destas moléculas.

Durante as pesquisas foi utilizado o polímero poli(adipato de isosorbíla) como base para sínteses subsequentes de novos materiais, devido ao fato de possuir síntese e caracterizações bem conhecidas, que serviram de parâmetro para as análises dos demais materiais. Na figura 19 a baixo é mostrado um espectro característico de RMN-^{1}H do polímero poli(adipato de isosorbíla), que serviu de parâmetro para outras caracterizações que continham isosorbídeo ou adipato na composição.

Os resultados obtidos por RMN-^{1}H deste polímero foram: 5,19-5H,12–2H; 4,83–1H; 4,47-1H; 3,94-2H; 3,80-1H; 2,40-2,35-4H; 1,70-1,65-4H.

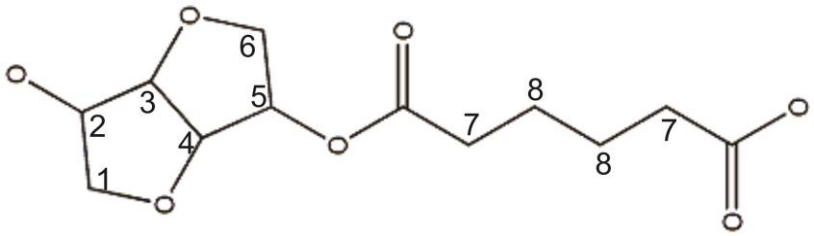

Figura 18 - Esquema da estrutura do polímero adipato de isosorbila, com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 19

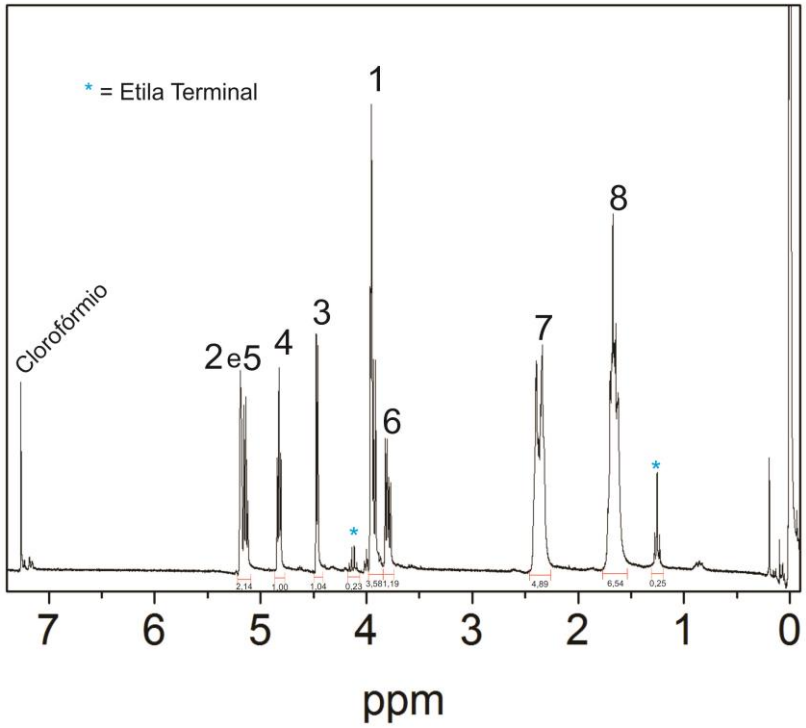

Figura 19 - RMN-^{1}H - Amostra de poli(adipato de isosorbila)

Todos os picos encontrados condizem com resultados obtidos em estudos anteriores[81].

Foram utilizadas três formas de sínteses nas funcionalizações realizadas neste trabalho. Funcionalização através de transesterificação do polímero base já sintetizado obtendo no final um copolímero funcionalizado, copolimerização através da esterificação direta a partir dos monômeros, incluindo a molécula de interesse, e esterificação de homopolímeros das moléculas de interesse utilizando um dos monômeros do polímero padrão.

Funcionalização com Glicerol

Poli(adipato de isosorbila co-glicerol)

Além da inserção direta da molécula de interesse ao polímero base através de esterificação ou transesterificação de seus monômeros, foi também estudado a possibilidade de inserção destas moléculas através de grupos funcionais livres na cadeia polimérica, como hidroxilas e grupos ácidos.

Para tal fim foi estudada a inserção de glicerol a cadeia polimérica do polímero poli(adipato de isosorbila) através de síntese enzimática, onde pretendia-se após esta copolimerização a realização de subsequente esterificação das moléculas de interesse ao polímero base, utilizando as hidroxilas perpendiculares a cadeia polimérica pertencentes aos gliceróis.

A grande dificuldade na síntese utilizando este composto é a diferença da polaridade da molécula de glicerol comparada aos outros monômeros do polímero base, assim toda a mistura de solventes utilizada até então foram feitas a partir de solventes apolares, o que dificultou a ligação concomitante do glicerol com os outros monômeros durante o processo de polimerização utilizando a enzima CAL-B. A falta de solubilidade do glicerol frente aos solventes utilizados dificultou nas sínteses realizadas envolvendo este composto.

Portanto foram adicionadas t-butanol e dioxano à mistura de solventes em experimento separados, com a finalidade de aumentar o caráter polar do meio, porém não foram obtidos os resultados satisfatórios neste processo.

Apesar da inclusão do glicerol ter sido explorada através dos três modos de sínteses propostos aqui, somente o método de síntese a partir dos monômeros apresentou resultado realmente satisfatório.

A amostra G3, sintetizada diretamente a partir dos monômeros visando adição de 10% de glicerol ao PIA, apresentou através de análise de GPC, M_w= 45.000 g/mol, M_n= 11.000 g/mol e PD= 4,1. Uma massa alta com relação aos biopolímeros relatados na literatura, porém menor que o polímero contendo glicerol sintetizado por Gross[35b] o qual obteve uma massa molar de 75.600 g/mol. Entretanto, Gross não utilizou em sua síntese um monômero volumoso como o isosorbídeo, o que pode ter afetado no resultado final, comparando ambos os polímeros.

O polímero sintetizado apresentou um estado plástico de cor branca translucida, com rendimento de aproximadamente 70%.

As análises de RMN-^{1}H caracterizaram o fragmento do polímero poli(adipato de isosorbila co-glicerol) demostrado pela figura 20, onde os números representam os hidrogênios encontrados do espectro da figura 21.

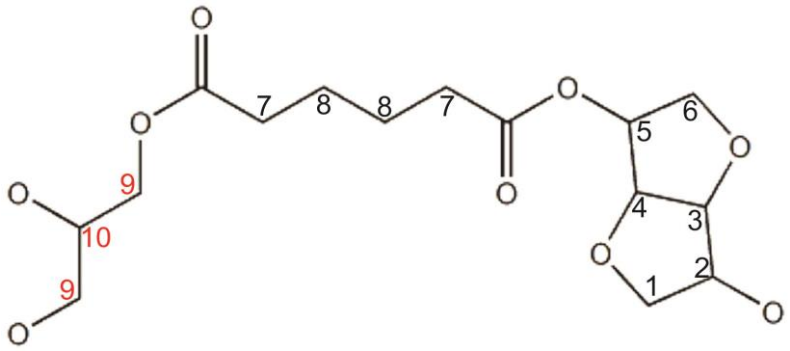

Figura 20 - Esquema da estrutura do polímero adipato de isosorbila co-glicerol, com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 21

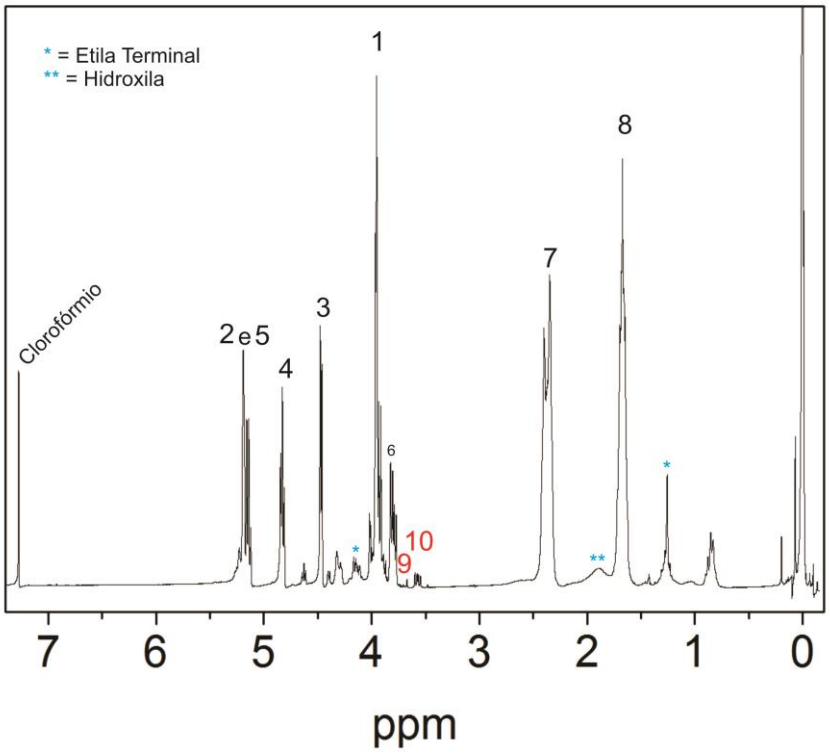

Figura 21 - RMN-^{1}H – Polímero Poli(adipato de isosorbila co-glicerol)

Através dos resultados obtidos com RMN-^{1}H, é possível perceber o aparecimento de picos característicos do glicerol nos deslocamentos 3,6 e 4,2 semelhantes aos encontrados para o monômero isolado, figura 25, e igual ao grupo de picos encontrado por Gross[35b] na figura 22 onde os picos pertencentes ao glicerol representados por a'+g' possuem os mesmos deslocamentos encontrados na figura 21 do copolímero de glicerol sintetizado no trabalho, comprovando a adição do glicerol ao polímero base.

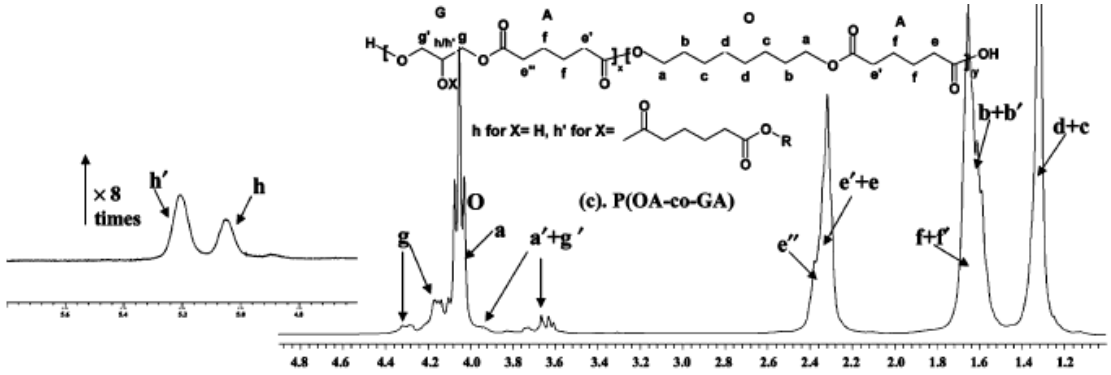

Figura 22 - RMN-^{1}H - Picos de Glicerol, trabalho do trabalho publicado por Gross R.[35b]

Na ampliação do grupo de picos 10 (Figura 21) com deslocamento entre 3,55 e 3,60 ppm aparecem dois dubletes com deslocamentos químicos e desdobramentos muito semelhantes ao glicerol puro, como é mostrado nas figuras 25 e 26, proveniente da adição do glicerol à cadeia polimérica.

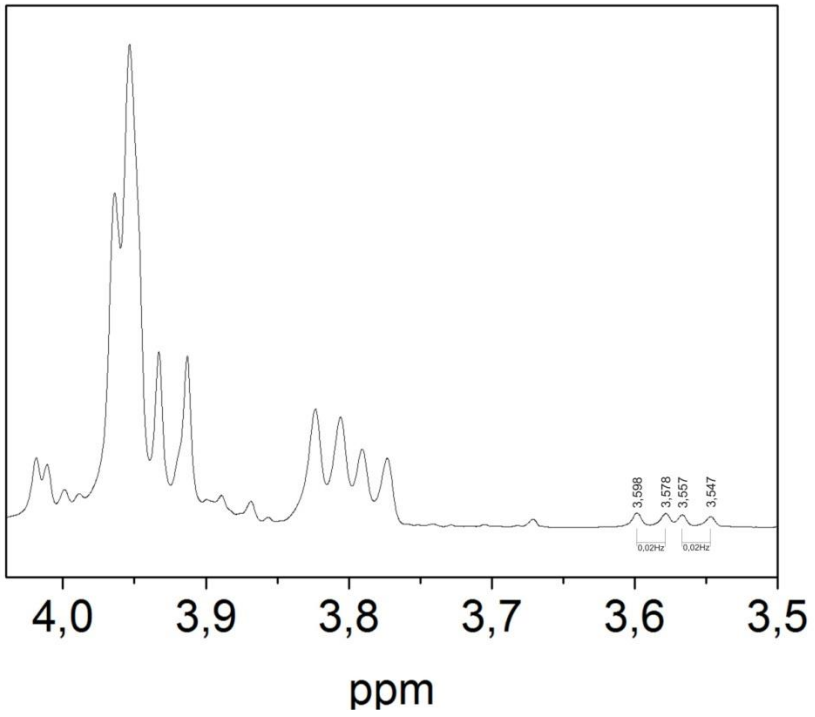

Figura 23 - RMN-^{1}H - Ampliação do grupo de picos 10 (Figura 21)

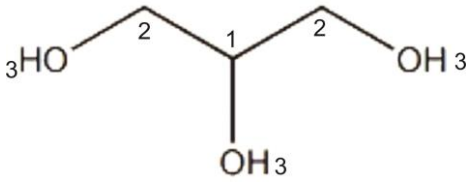

Figura 24 - Estrutura química da molécula de glicerol, onde os números representam os hidrogênios encontrados no RMN da figura 25

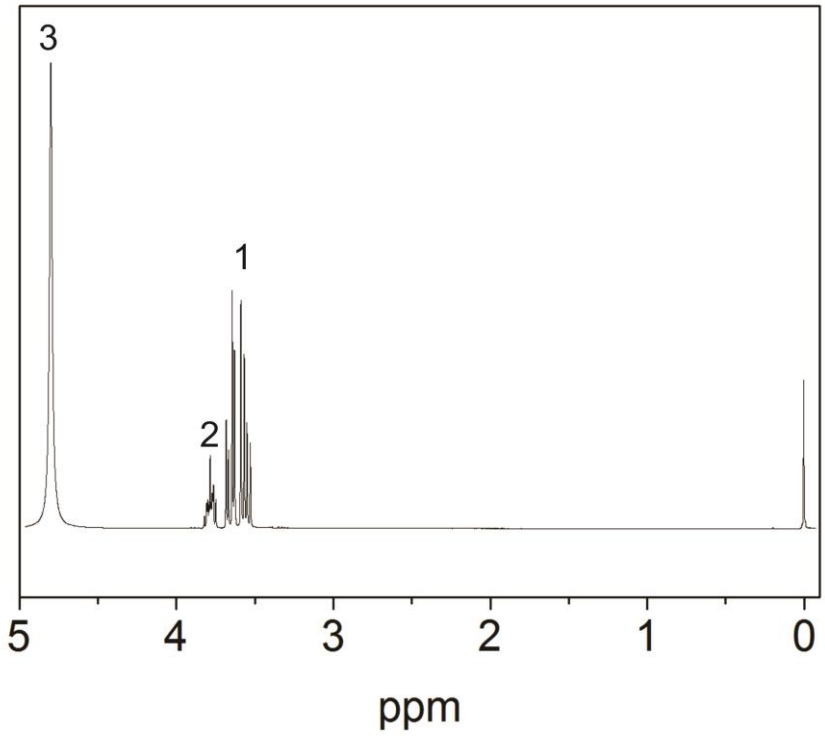

Figura 25 - RMN-^{1}H - Glicerol Puro

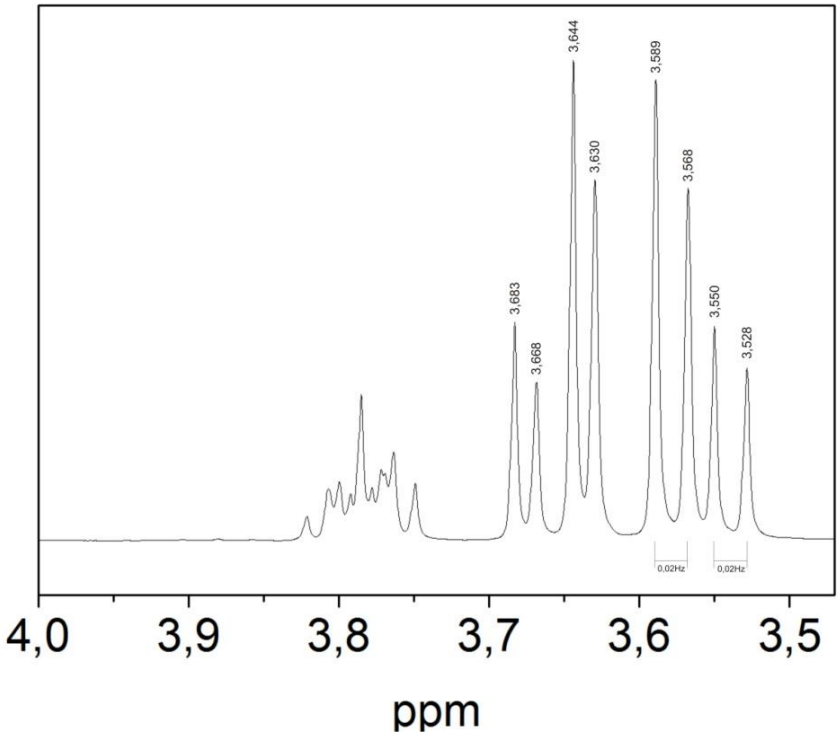

Figura 26 - RMN-^{1}H - Ampliação do grupo de picos 1 e 2 (Figura 25)

A análise de integração dos picos do RMN mostra uma adição de 1% de glicerol ao polímero, bem a baixo do desejado que era de 10%, provavelmente devido a afinidade muito maior entre a enzima e os monômeros lineares utilizados, e também por estarem em um ambiente químico muito mais favorável a moléculas apolares.

A partir deste resultado conclui-se que é possível inserir glicerol na cadeia polimérica utilizando a técnica de síntese abordada neste trabalho, necessitando melhorar a mistura de solventes utilizada a fim de obter melhores resultados.

Foram realizadas sínteses utilizando glicerol em diversas porcentagens de monômeros, porém não foram obtidos resultados satisfatórios quanto a variação da concentração destes reagentes.

A síntese de polímeros com diversas porcentagens de adição é de grande importância para criação de dispositivos de liberação de molécula de interesse, o que

possibilitaria a regulação da concentração da molécula bioativa liberada em ambiente biológico.

Foram realizadas caracterizações dos materiais sintetizados através de MALDI-ToF, uma técnica muito utilizada na caracterização de copolímeros, uma vez que a partir desta técnica é possível ter-se ideia do posicionamento dos monômeros na cadeia polimérica, e assim determinar se o polímero sintetizado é periódico ou não. Além disso, é possível também ser utilizada para caracterização simples, como para confirmar a polimerização da amostra.

A elucidação quando a periodicidade da adição é importante quando queremos uma liberação das moléculas bioativas de interesse de forma homogênea. Para tal fim não é de grande interesse a produção de polímeros segmentados devido a falta de controle da concentração das moléculas bioativas liberadas do material, a análise de MALDI-ToF nesse aspecto é importante na confirmação da copolimerização do material.

A análise por MALDI-TOF foi realizada caracterizando famílias de picos homólogos, utilizando o polímero contendo glicerol como exemplo, onde seus monômeros foram caracterizados e quantificados da seguinte forma: monômero de isosorbídeo (X) + monômero de adipato (Y) + monômero de glicerol (Y) + grupo terminal 1 (EG1) + grupo terminal 2 (EG2) + partícula carregada (CS), onde os valores de massa de x, y e z são as massas dos fragmentos de cada monômero pertencente ao polímero.

Os EG (end groups) 1 e 2 possíveis de serem encontrados eram, OH com massa igual a 17, ONa= 39 e OC_2H_5= 45.

As partículas carregadas possíveis de serem encontradas eram Na^+ com massa de 23 ou H^+ com massa de 1.

Desta forma, foi criada uma tabela onde foram expostos os valores dos picos obtidos no espectro denominado de m/z experimental, e também valores de m/z teórico, que representa o valor de m/z esperado por uma combinação especifica proveniente da soma exposta a baixo.

Tabela 1 - Análise de MALDI-ToF – Poli(adipato de isosorbila co-glicerol)

	X	Y	Z	EG1	EG2	CS	$m/z_{(teórica)}$	$m/z_{(exp.)}$
1	4	4	1	39	45	23	1204	1205
1	5	5	1	39	45	23	1460	1462
1	6	6	1	39	45	23	1716	1718
2	5	4	1	39	45	23	1332	1334
2	6	5	1	39	45	23	1588	1590
2	7	6	1	39	45	23	1844	1846

Foram expostos apenas alguns picos de cada série homologa, porém os picos homólogos se estendem periodicamente por todo o espectro de massa.

É possível constatar através dos dados acima a adição do glicerol como desejado, como já caracterizado anteriormente através de RMN.

É possível constatar também que quanto maior é a cadeia polimérica, menor é a porcentagem de glicerol nela, provavelmente porque sendo a cadeia polimérica apolar, quanto maior a cadeia, mais favorável ela é a reações apolares, e menos favoráveis a reações polares, o que torna as reações com adipato e isosorbídeo mais favoráveis comparadas as reações com glicerol.

Pode ter ocorrido também uma polimerização a partir de uma molécula de glicerol, pois é possível verificar apenas uma molécula de glicerol em todos os grupos de picos, sendo assim um iniciador desta reação, sendo limitadas outras adições devido à apolaridade gerada com o aumento das cadeias poliméricas.

A figura a baixo é o espetro completo de MALDI-ToF da amostra em questão onde é possível observar todos grupos de massa molar distribuídos de forma linear onde

encontra-se em maior quantidade moléculas de menor massa molar, e em menor quantidade grupos de moléculas maiores de até 5.000 g/mol, porem este técnica não é a mais indicada para caracterização de massa molar da amostra, e sim para caracterização da morfologia do polímero analisado.

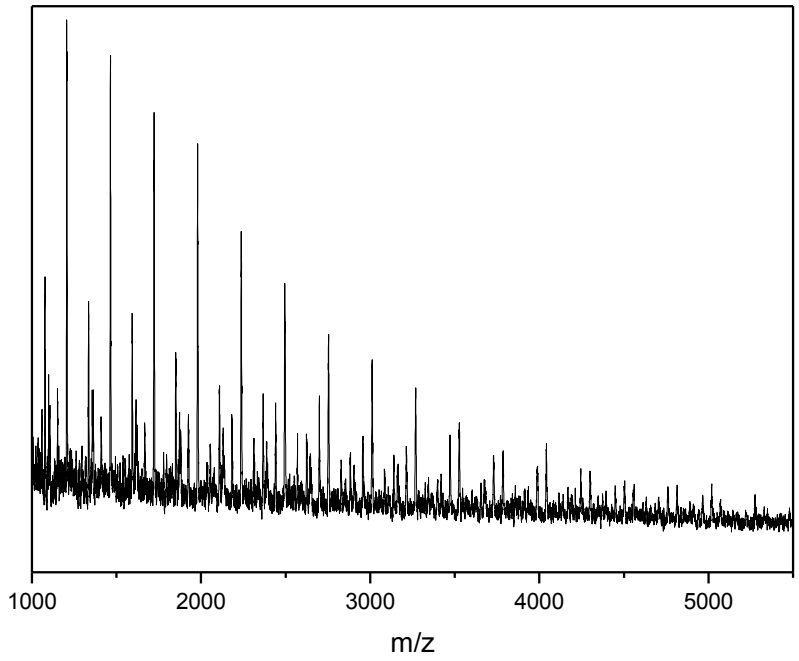

Figura 27 - MALDI-ToF – Poli(adipato de isosorbila co-glicerol)

Na figura abaixo é mostrado uma ampliação da figura 27, onde são demonstrados as famílias de picos homólogos da molécula, sendo possível analisar a periodicidade da amostra.

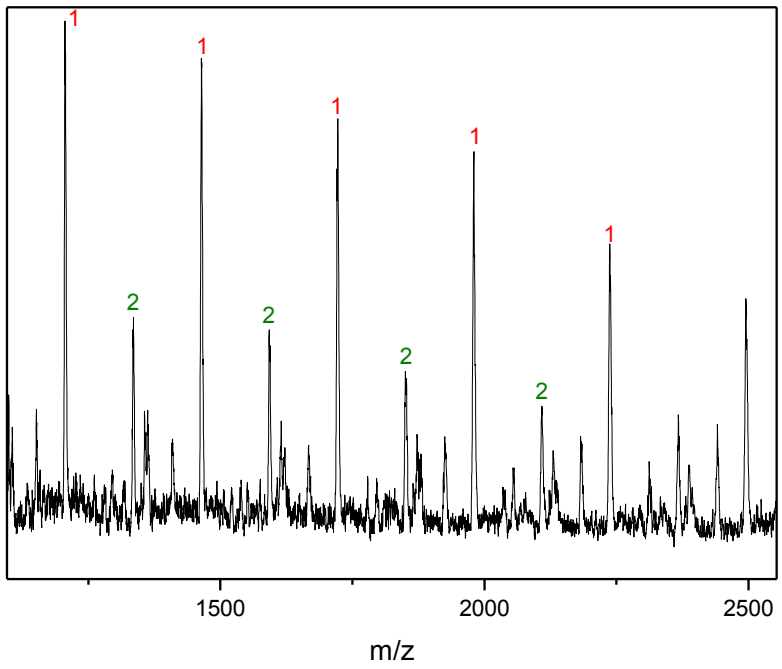

Figura 28 - MALDI-ToF – Poli(adipato de isosorbila co-gliceorl) - Ampliação da Figura 27

É possível observar através do espectro de MALDI-TOF uma periodicidade dos picos, provenientes de fragmentos dos monômeros da cadeia polimérica, sendo possível perceber um perfil característico de uma amostra polimérica polidispersa, pois são observados picos de massa que vão de 5.000 g/mol até picos 1.000 g/mol, sendo este um sinal evidente da polimerização do material.

Funcionalização com Azelato

Poli(adipato co-azelato de isosorbila)

A utilização do azelato como composto de interesse é uma vantagem na funcionalização do PIA porque, além de ser proveniente de fonte renovável e possuir atividade biológica, o azelato é muito semelhante a um dos monômeros do PIA, sendo

também substituinte do único monômero não proveniente de fonte renovável do polímero padrão.

Portanto um dos objetivos deste trabalho é substituir o PIA como polímero padrão pelo poli(azelato de isosorbila), PIZ, polímero este ainda não sintetizado na literatura.

Esse objetivo foi alcançado, e vai além do que era esperado, pois polímeros sintetizados utilizando azelato no lugar de adipato apresentaram resultados melhores com relação à afinidade entre as moléculas de interesse deste trabalho.

Além de homopolímeros sintetizados com azelato, foram também sintetizados copolímeros de PIA funcionalizados com azelato. Neste caso, era esperada uma síntese fácil devido a grande semelhança do azelato com o adipato, onde um exemplo desta síntese é a amostra Az3.

A amostra Az3 é um copolímero de PIA com a adição de 10% de azelato à sua estrutura utilizando síntese direta a partir dos monômeros. O objetivo com esta amostra é a realização de um controle da quantidade de liberação do composto de interesse, caso o material seja utilizado para liberação controlada de fármacos. O estudo da variação da adição do azelato ao polímero base não foi o foco dos experimentos, e sim elaborar um método de síntese que possibilitasse sua incorporação ao polímero em pequenas quantidades.

É possível encontrar na literatura polímeros feitos a partir de azelato de diversas formas, através de catalizadores metálicos[95] que podem ser considerados tóxicos para utilização em dispositivos biodegradáveis; utilizando compostos aromáticos[96] utilizados para síntese de polímeros cristalinos; em blendas poliméricas[2] para utilização em dispositivos de liberação controlada de fármacos; com polipropileno[50]; com polibutileno

oxalato; com anidrido ftálico sintetizado em massa[49] e utilizando síntese via catálise enzimática[97].

Outro diferencial é a utilização de pequenas proporções do composto de interesse na rede polimérica, possibilitando uma variação da concentração dos monômeros liberados durante sua degradação.

As análises feitas com GPC caracterizaram a polimerização da amostra AZ3 com: M_w= 36.000, M_n= 16.000 e PD= 1,4. Uma massa muito boa já que nos estudos citados, a massa molar encontrada varia de 6.000 a 40.000.

A análise por RMN-^{1}H apresenta a incorporação do azelato à estrutura polimérica através dos picos 9 e 10, evidenciados por serem exógenos ao espectro do polímero PIA. Conforme espectro abaixo:

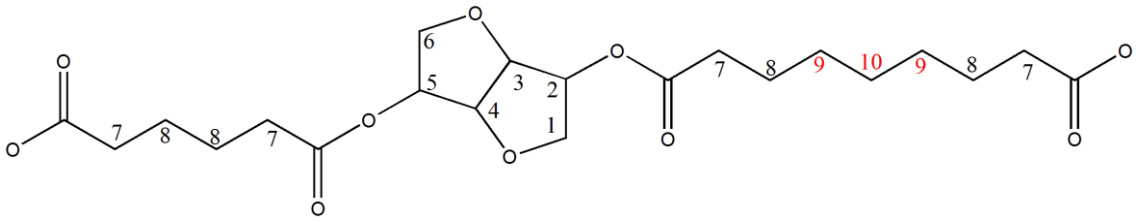

Figura 29 - Esquema da estrutura do polímero poli(adipato co-zelato de isosorbila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 30

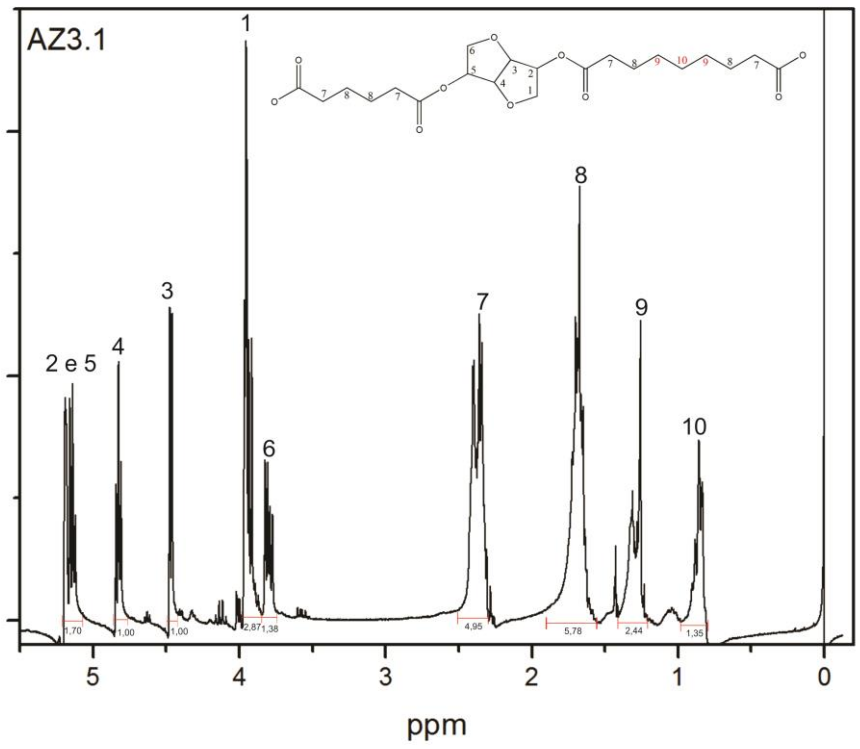

Figura 30 - RMN-^{1}H - Amostra Poli(adipato co-azelato de isosorbila)

Nota-se que houve um deslocamento do pico número 10 em relação ao azelato puro, representado na figura 32 pelo pico número 1, havendo também uma definição com relação ao grupo de hidrogênios 9 e 10, que aparecem fundidos no espectro do azelato puro, provavelmente por conta da mudança do ambiente químico.

Na figura 19, é possível observar o espectro de RMN do polímero PIA puro e assim compará-lo com a amostra AZ3 evidenciando os grupos de picos 9 e 10 como exógenos ao PIA e assim determinante na análise de incorporação.

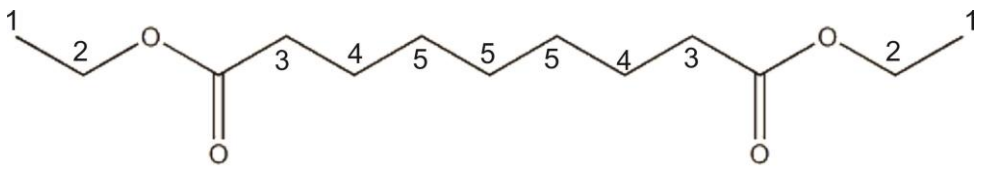

Figura 31 - Esquema da estrutura do monômero azelato de dietila, com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 32

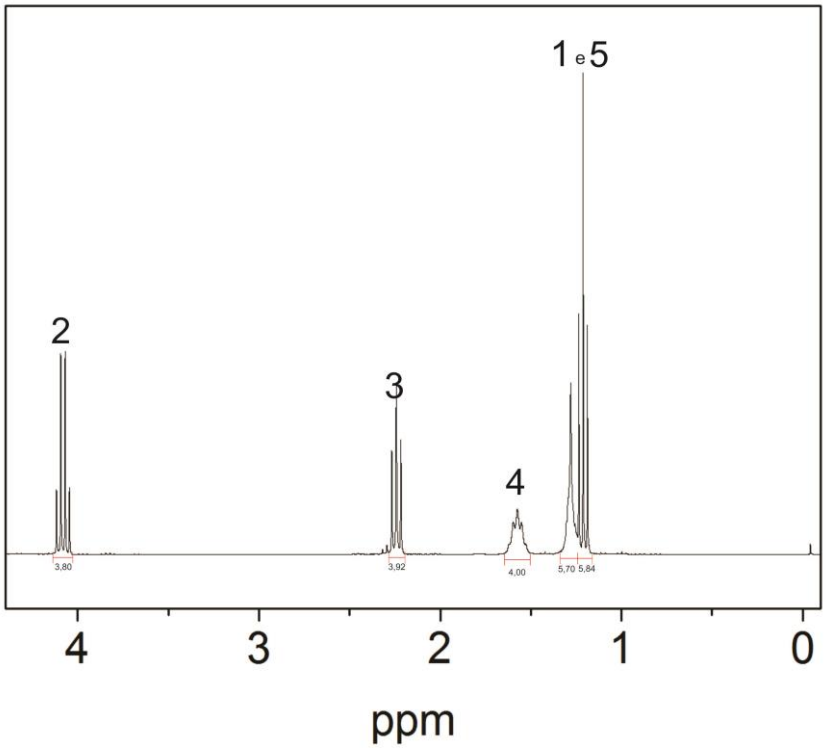

Figura 32 - RMN-^{1}H- Dietil Azelato

É possível observar também na figura 22 a presença, em proporção muito pequena, do quadripleto das etilas terminais no deslocamento 4.10 ppm no espectro da amostra AZ3, figura 30, apresentando intensidade bem inferior aos picos de número 9 e 10 que caracterizam o azelato, demonstrando que os picos citados não se referem a material precursor remanescente na amostra, e sim da molécula inserida ao polímero, como desejado. Como também é comprovado através das análises de copolimerização feitas através de MALDI-ToF, expostas a seguir.

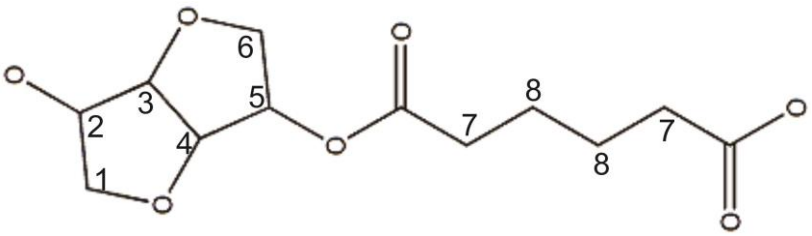

Figura 33 - Hidrogênios analisados do polímero Poli(adipato de isosorbila).

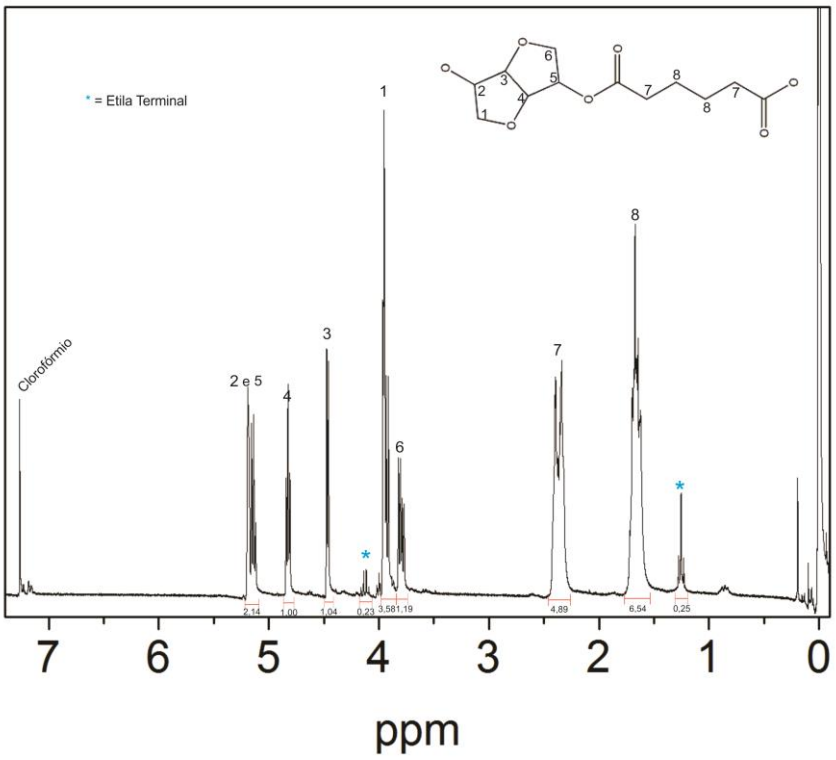

Figura 34 - RMN-^{1}H – Polímero Poli(adipato de isosorbila)

As áreas dos picos 9 e 10 flutuam em relação a área que estes deveriam ter, devido a molécula que esta sendo analisada estar presente em apenas 10% do polímero analisado e sua adição ser feita de modo randômico, como é demostrado a seguir através de análise por MALDI-ToF.

No espectro de MALDI-Tof obtido, figura 35, é possível observar um perfil característico de polímeros, onde são encontrados em maior quantidade oligômeros próximos a m/z =1000 que diminuem em quantidade conforme a massa molar é aumentada. Porém esta técnica não é utilizada para medida de massa molar de polímeros e sim é utilizada para caracterização do posicionamento dos monômeros na cadeia polimérica, portanto de muita importância para caracterização de copolímeros.

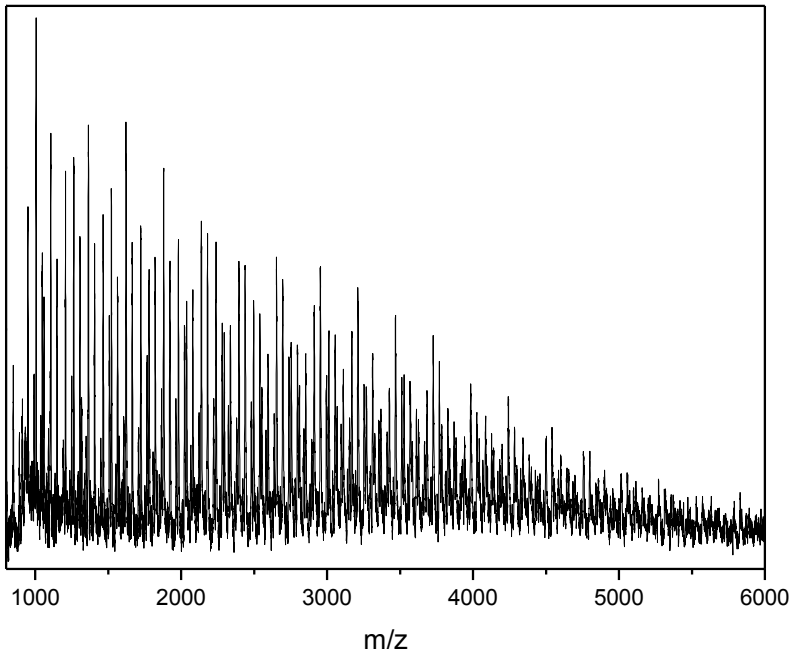

Figura 35 - MALDI-ToF – Poli(adiapto co-azelato de isosorbila)

Na figura 36 abaixo é demostrado os fragmentos esperados provenientes do copolímero de azelato sintetizado, e abaixo de cada fragmento encontra-se a massa molar e a letra correspondente ao fragmento analisado na tabela 2.

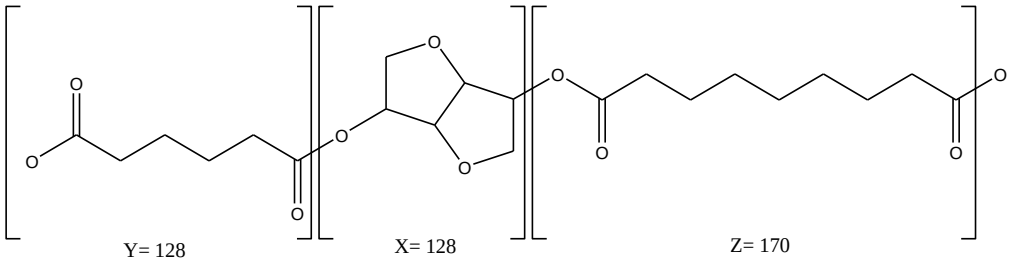

Figura 36 - Fragmento Polimérico - Azelato+Isosorbídeo+Adipato

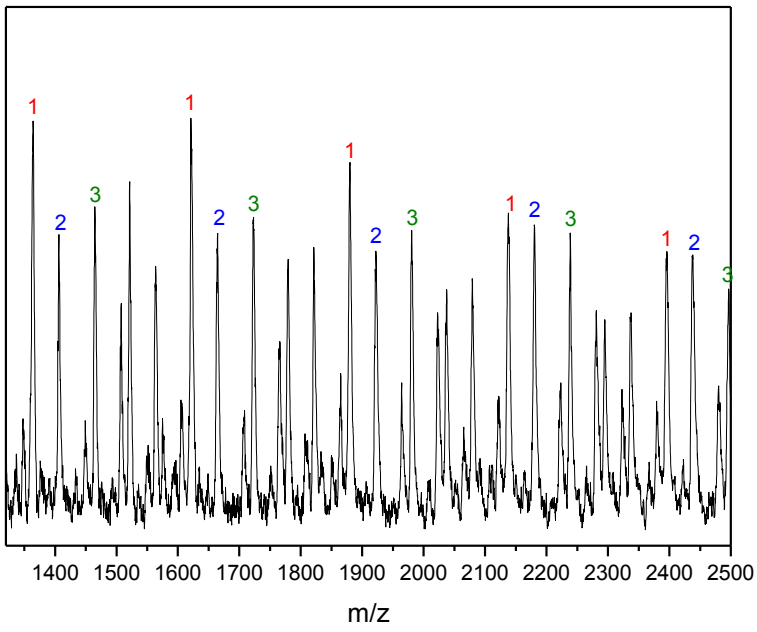

Figura 37 - MALDI-ToF – Polimero Poli(adipato co-azelato de isosorbila) (Ampliação da Figura 36)

Na figura acima, ampliação do espectro de MALDI-ToF, é possível perceber a periodicidade das famílias de picos correspondentes as macromoléculas poliméricas, e também uma maior quantidade de picos comparada as amostras de copolímero de glicerol, figura 28, fato este devido a presença de um grupo a mais de picos, o que torna a espectro menos limpo, porém não afetando a resolução da amostra.

Tabela 2 - Análise de MALDI-ToF – Poli(adipato co-azelato de isosorbila)

	X	Y	Z	EG1	EG2	CS	m/z(teórica)	m/z(exp.)
1	3	3	3	17	45	23	1363	1363
1	4	4	3	17	45	23	1619	1619
1	5	5	3	17	45	23	1875	1876
2	5	4	1	17	45	23	1407	1407
2	6	5	1	17	45	23	1663	1664
2	7	6	1	17	45	23	1919	1920
3	4	3	3	17	17	23	1463	1465
3	5	4	3	17	17	23	1719	1721
3	6	5	3	17	17	23	1975	1977

Através de análise da tabela 2, é possível verificar a adição do azelato ao polímero de forma randômica, pontando não possuindo uma periodicidade na inclusão

do azelato à cadeia polimérica, o que já era esperado por se tratar de uma molécula semelhante ao adipato, não havendo características suficientes para a ocorrência de uma preferência na inclusão de algum dos monômeros que levasse a formação de blocos na cadeia polimérica.

É possível observar que o azelato está presente em proporções semelhantes aos demais monômeros em todas as cadeias poliméricas, sendo elas grandes ou pequenas, o que não ocorre com o glicerol como foi mostrado acima. Isto se deve, provavelmente, a grande semelhança do azelato e o adipato, não havendo uma grande distinção na ordem de reação da enzima com ambos os monômeros, e uma grande afinidade do azelato a mistura de solvente utilizada.

Observa-se também que não é encontrada apenas uma unidade da molécula de interesse nas cadeias poliméricas como ocorrido na amostra contendo glicerol, não sendo então utilizada como iniciador da polimerização, o que pode ter ocorrido com o glicerol.

Poli(azelato de isosorbila)

A amostra Az4 é resultado do principal objetivo criado para o azelato: criar um homopolímero base para os experimentos subsequentes, e assim substituir o PIA como polímero base pelo polímero poli(azelato de isosorbila), um polímero totalmente proveniente de fonte de matéria renovável com um dos monômeros biologicamente ativo e nunca antes sintetizado na literatura. Esta amostra foi sintetizada utilizando o mesmo método de síntese do PIA.

Análise de GPC apresentou polimerização com: M_w= 12.300 e M_n= 7.200. Bem abaixo da massa molar obtida com o co-polímero, porém estando na média das sínteses na literatura para o azelato.

O aspecto do material obtido é muito semelhante ao PIA, porém com uma aparente plasticidade menor, apresentando um rendimento de aproximadamente 70%.

É possível observar através da figura 39 um espectro de MALDI-ToF com as mesmas características esperadas para polímeros, como na análise anterior de MALDI-ToF.

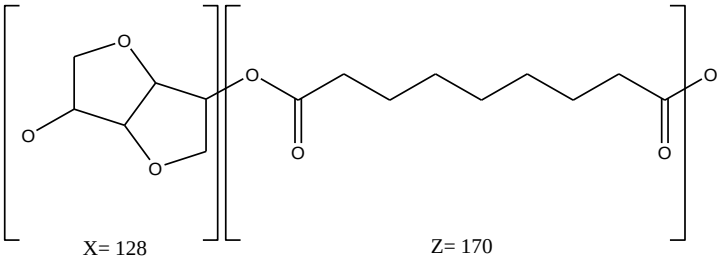

Figura 38 - Fragmento Polimérico - Isosorbídeo+Azelato

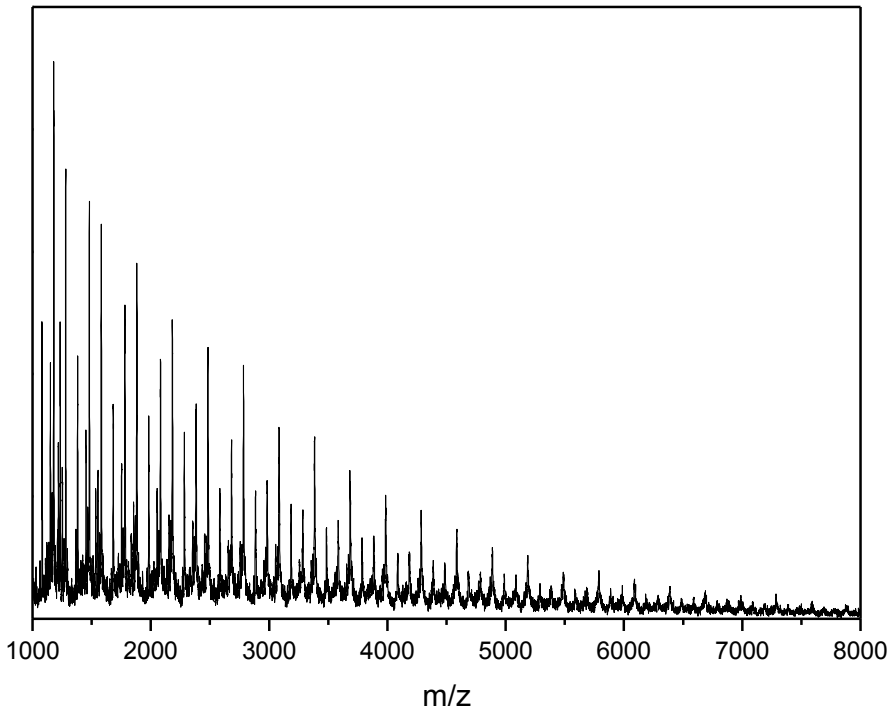

Figura 39 - MALDI-ToF – Poli(azelato de isosorbila)

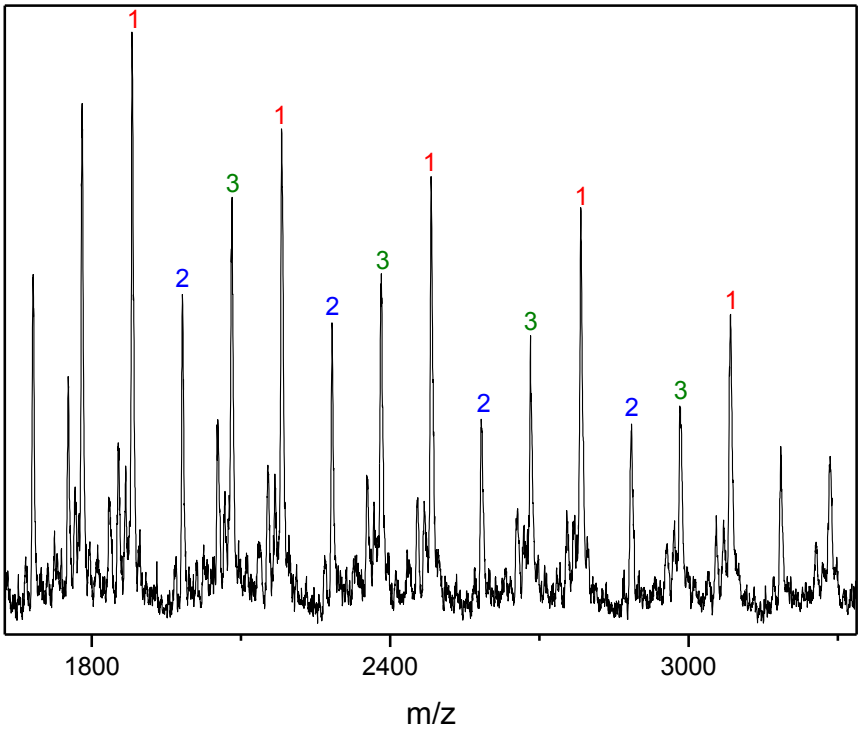

Figura 40 - MALDI-ToF - Amostra Az4 (Ampliação da Figura 39)

Tabela 3 - Análise de MALDI-ToF – Poli(azelato de isosorbila)

	X	Y	Z	EG1	EG2	CS	m/z(teórica)	m/z(exp.)
1	6	0	6	45	45	1	1879	1880
1	7	0	7	45	45	1	2177	2179
1	8	0	8	45	45	1	2475	2477
2	6	0	5	17	45	1	1681	1682
2	7	0	6	17	45	1	1979	1981
2	8	0	7	17	45	1	2277	2279
3	7	0	5	17	17	1	1781	1781
3	8	0	6	17	17	1	2079	2081
3	9	0	7	17	17	1	2377	2379

Análises feitas a partir da tabela a cima caracterizaram a proporção de 1:1 esperada para um homopolímero.

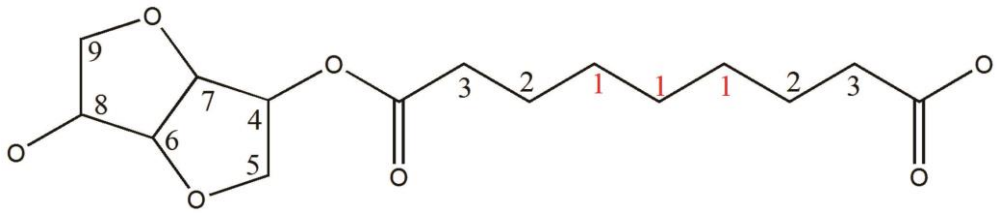

Figura 41 - Esquema da estrutura do polímero Poli(azelato de isosorbila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 42

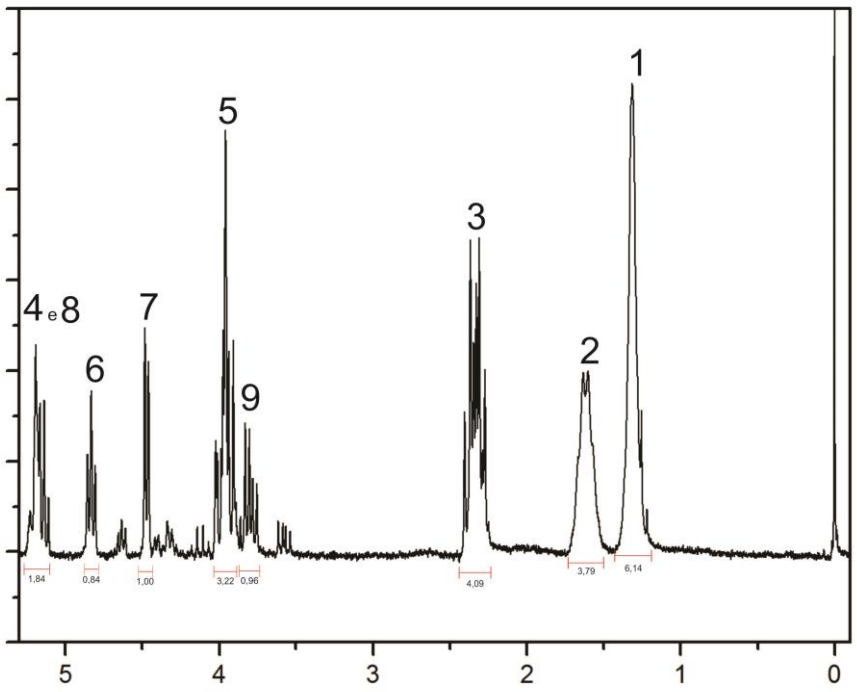

Figura 42 - RMN-^{1}H – Polímero Poli(azelato de isosorbila)

A análise de RMN-^{1}H caracteriza a estrutura do polímero poli(azelato de isosorbila), evidenciado pelo aparecimento do pico número 1, semelhante a amostra anterior onde a molécula em foco é a mesma, porém, como nesse caso se trata de um homopolímero a área do pico analisada aparece dentro da área esperada para ele, 6,00 correspondente aos 6 hidrogênios característicos do azelato.

Como neste caso não há uma terceira molécula a ser inserida ao polímero, obviamente o polímero obtido se tratava de uma proporção de 1:1 dos dois monômeros utilizados, porém a análise de RMN foi feita de forma complementar, ajudando também na caracterização de forma comparativa de outros materiais sintetizados com azelato neste trabalho.

O azelato foi utilizado em todas as sínteses onde era necessário um diácido para polimerização, e assim substituir o adipato como monômero padrão. Com esta substituição foram encontrados resultados melhores comparados aos resultados utilizando adipato. Estes polímeros contendo azelato serão mostrados no decorrer deste trabalho.

Através dos resultados obtidos com azelato conclui-se que é possível a substituição do polímero PIA pelo polímero PIZ como padrão nas funcionalizações exploradas neste trabalho. Pois foram obtidos melhores resultados de sínteses utilizando o monômero azelato comparado aos resultados obtidos utilizando adipato. Sendo também de maior interesse a utilização do azelato por ser proveniente de fonte renovável e também possuir atividades biológicas.

Funcionalização com Citrato

Poli(adipato co-citrato de isosorbila)

A utilização do citrato imaginava-se bastante complicada devido a presença de quatro grupos funcionais que poderiam participar das reações, três grupos ácidos e uma hidroxila. Entretanto, foi possível sintetizar dois materiais provenientes deste composto, um copolímero com o PIA e um homopolímero com isosorbídeo, sendo o último um material totalmente proveniente de fonte renovável.

Outro problema também esperado na síntese utilizando este composto seria o mesmo encontrado para o glicerol: a diferença de polaridade entre os monômeros e os solventes. Como para a utilização de grupos ácidos é necessário a esterificação do monômero, sobrou apenas uma hidroxila dando o caráter polar a molécula, o que não ocorre com o glicerol. Assim o triéster de ácido cítrico apresenta maior afinidade frente aos solventes apolares utilizados, obtendo melhores resultados comparados ao glicerol.

A utilização do ácido cítrico para polimerização pode levar a vários tipos de combinações de ligações dos monômeros, sendo eles: (i) polimerização através de dois grupos ácidos ficando um grupo ácido e uma hidroxila livre, (ii) polimerização através dos três grupos ácido formando um polímero estrela, (iii) polimerização dos três grupos ácidos e da hidroxila, sendo o caso mais extremo e pouco provável de ocorrer, (iv) polimerização através de dois grupos ácidos e da hidroxila, também difícil de ocorrer, e (v) polimerização através de um grupo ácido e uma hidroxila.

Portanto os materiais obtidos com este composto necessitam de análises mais detalhadas quanto a estrutura do polímero obtido. Resultados publicados na literatura falam muito na ocorrência de polimerização de dois grupos ácidos deixando um grupo ácido livre, utilizado em subsequentes funcionalizações[39], assim como da polimerização estrela utilizando os três grupos ácidos[40, 42].

Até o momento, entretanto, não foram realizados estudos mais detalhados da estrutura obtido dos polímeros sintetizados para este composto, sendo interessante futuras elucidações destes materiais.

Além de a molécula de ácido cítrico ser uma molécula bioativa utilizada, ela também pode ser gerar pontos de “ancoragem” de outras moléculas para funcionalização polimérica. Análises de MALDI-ToF realizadas mostraram que moléculas de ácido cítrico são adicionadas à cadeia polimérica em uma excelente

proporção comparada ao outros monômeros do material, o que não ocorre com o glicerol.

A amostra Ct1 foi sintetizada a partir dos monômeros com o intuito de substituição de 10% do adipato do PIA por citrato mostrou, através de análise de GPC, valores de M_w= 19.000 g/mol, M_n= 13.000 g/mol e PD= 1,4. São valores considerados razoáveis levando em consideração a complexidade da molécula, impedimento estérico e a diferença de polaridade comparada aos outros monômeros, e uma massa molar alta comparada ao copolímero de citrato e PLLA sintetizado na literatura onde foi obtido um M_n de 2.100 g/mol[41].

O material obtido possui uma plasticidade relativamente menor comparada as amostras de PIA e amostras contendo azelato, sendo um material de cor branca translucida, onde em média é obtido rendimento de 60%.

A análise por RMN-^{1}H mostrou a adição do citrato ao polímero. O aparecimento de picos de perfil e deslocamentos químicos exatos aos picos do citrato puro, além de um grupo de picos de perfil semelhante, porém com deslocamentos químicos ligeiramente diferentes, indica a presença de no mínimo dois produtos, possivelmente um com o citrato ocupando a posição terminal do polímero e outro ocupando uma posição de dupla substituição no interior da cadeia polimérica, como é mostrado com detalhes na figura 45, além de haver a possibilidade de formação de todas as ligações discutidas acima.

Este indício de formação de dois materiais distintos também é observado na análise de MALDI-TOF abaixo, figura 48, onde é possível observar duas famílias de picos homólogos e periódicos de áreas distintas.

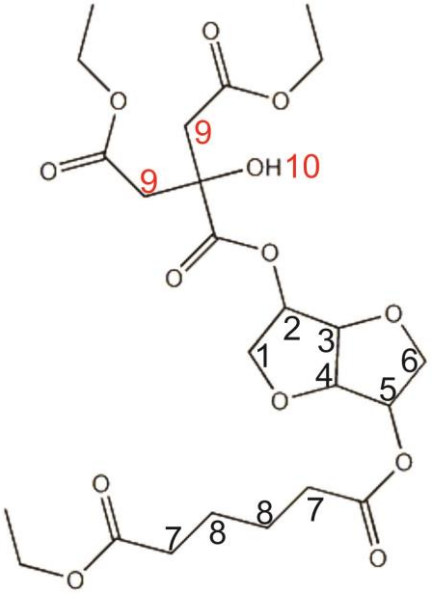

Figura 43 - Esquema da estrutura do polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 44

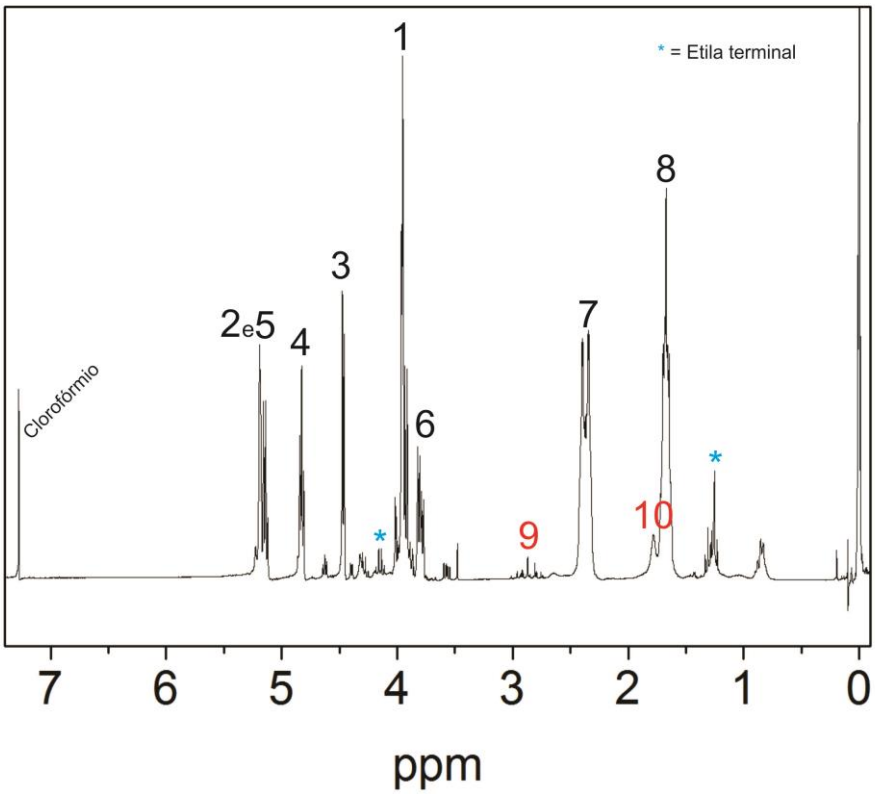

Figura 44 - RMN-1H – Polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila)

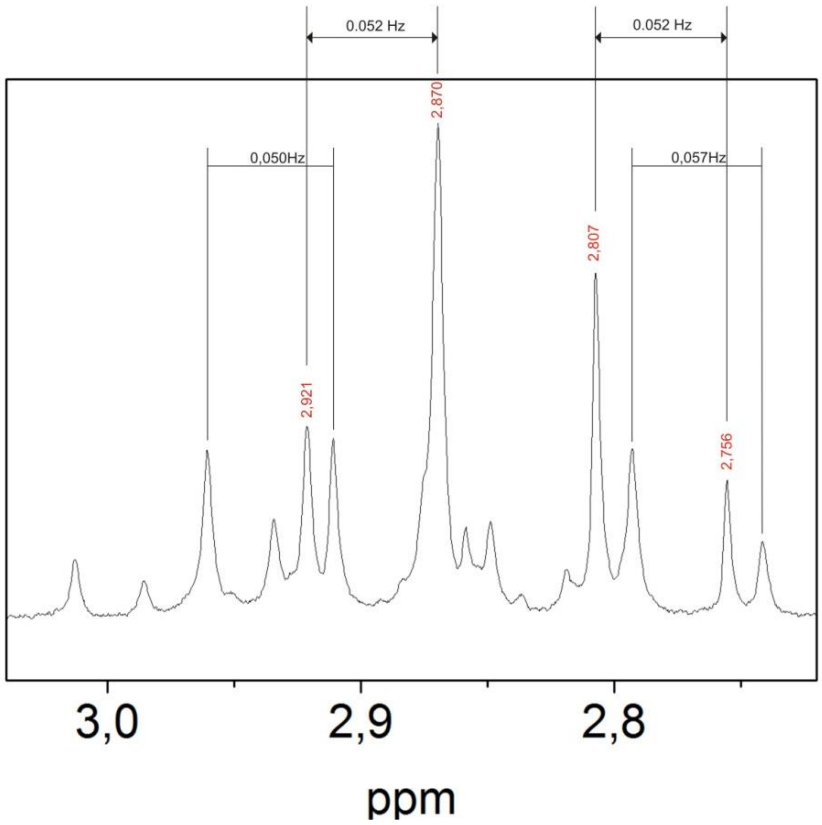

Figura 45 - RMN-^{1}H – Polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila) - Ampliação do grupo de picos 9 (Figura 44)

Já era esperada a formação de produtos diferentes na mesma amostra devido a possibilidade de diversas ligações utilizando este composto e, a partir das análises realizadas, é possível dizer que houve a formação de pelo menos dois materiais distintos.

A análise por MALDI-TOF caracteriza a adição do citrato à estrutura do polímero, sendo que em um grupo de picos homólogos é observado uma grande adição de citrato ao polímero e outro grupo homólogo com baixa adição, ambos os grupos aparecendo periodicamente por toda a extensão do espectro.

Provavelmente a ocorrência de baixa adição seja decorrente de formação de polímero estrela onde foi incluída uma proporção de 1:3 moléculas de citrato versus isosorbila nesta formação, o que dificulta também no crescimento polimérico devido a impedimentos estéricos da própria cadeia polimérica durante a polimerização.

É possível observar um perfil muito evidente e limpo da polimerização da amostra, observando a presença de citrato mesmo em cadeias poliméricas longas, o que não ocorre nas amostras de glicerol, devido provavelmente ao caráter mais apolar do citrato etilado.

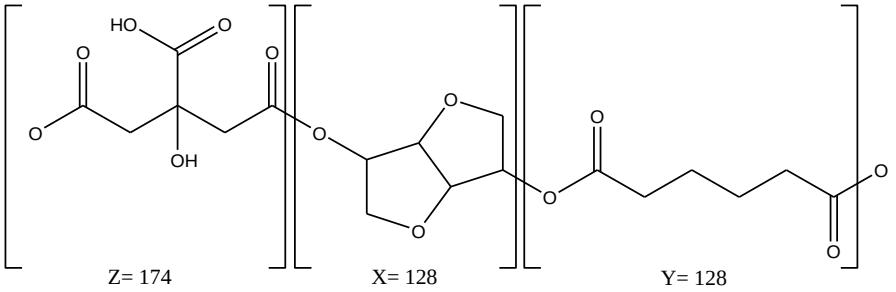

Figura 46 - Fragmento Polimérico - Citrato+Isosorbídeo+Adipato

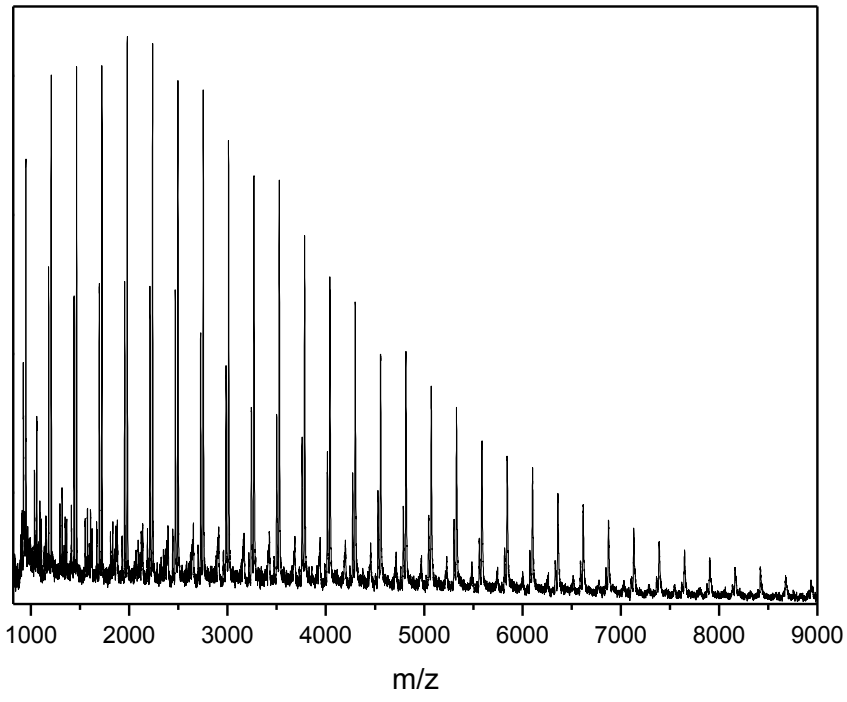

Figura 47 - MALDI-ToF – Polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila)

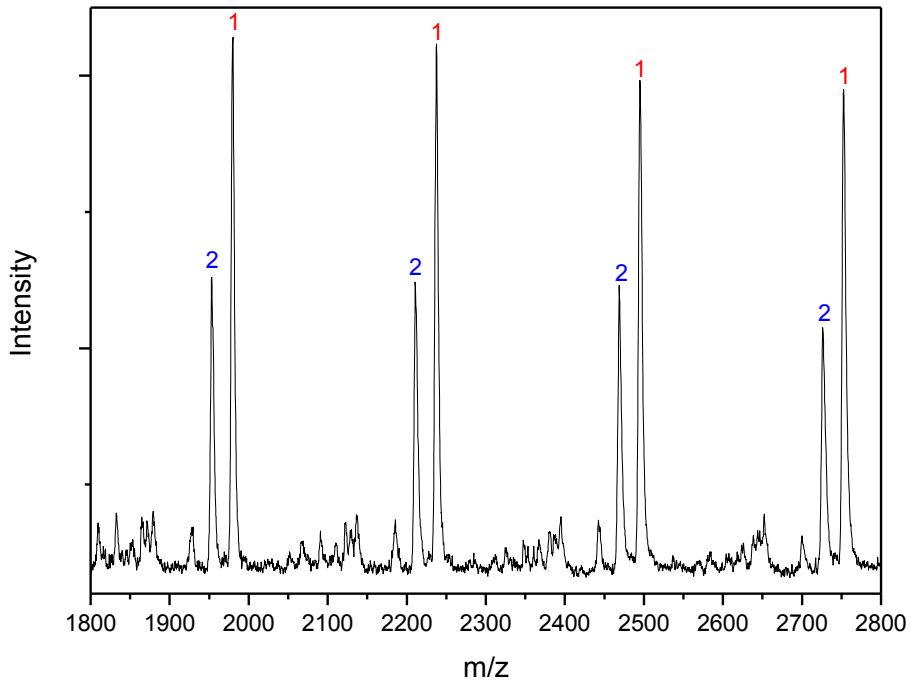

Figura 48 - MALDI-ToF – Polímero Poli(adipato co-citrato de isosorbila) - Ampliação da Figura 47

Tabela 4 - Análise de MALDI-ToF – Poli(adipato co-citrato de isosorbila)

	X	Y	Z	EG1	EG2	CS	m/z(teórica)	m/z(exp.)
1	4	4	5	17	45	23	1979	1979
1	5	5	5	17	45	23	2235	2236
1	6	6	5	17	45	23	2491	2493
2	7	6	1	45	45	23	1951	1953
2	8	7	1	45	45	23	2207	2209
2	9	8	1	45	45	23	2463	2465

Como foi dito, observa-se uma porcentagem muito maior de adição no grupo de picos 1 e uma menor adição no grupo de picos 2, além do que no grupo 2 ocorre apenas uma adição de citrato a cadeia polimérica, o mesmo ocorrido na copolimerização com glicerol. Caso tenha ocorrido a formação do polímero estrela provavelmente este seja caracterizado pelo grupo 2 de picos, devido a proporção menor do citrato nesse tipo de formação.

Poli(citrato de isosorbila)

A síntese do homopolímero de citrato também é inédita na literatura, sendo sintetizado o polímero poli(citrato de isosorbila) também um material totalmente proveniente de fonte renovável.

Para este material também esperava-se uma síntese difícil devido ao grande volume de ambos os monômeros, esperando obter um material de massa molar baixa devido ao impedimento estérico gerando durante o crescimento das cadeias poliméricas.

A amostra sintetizada do polímero em questão é a amostra Ct4, que em análise por GPC apresentou M_w= 8.000 g/mol e M_n= 3.800 g/mol.

Comparado com o polímero de gluconolactona + ácido cítrico[42] de massa molar 2.500 g/mol, descrito na literatura, é um resultado muito bom. Comparação esta mais próxima do polímero sintetizado aqui devido ambos os experimentos serem realizados com monômeros cíclicos e de grande volume.

Como esperado obteve-se uma massa molar menor do que os outros materiais descritos até agora, porém comparado com polímeros da literatura com problemas semelhantes, pode-se considerar um bom resultado.

A análise por MALDI-TOF desta amostra apresentou uma distribuição muito característica à distribuição de massa molar em amostras poliméricas, com formação de um perfil parabólico, que representa a polidispersividade da massa molar da amostra.

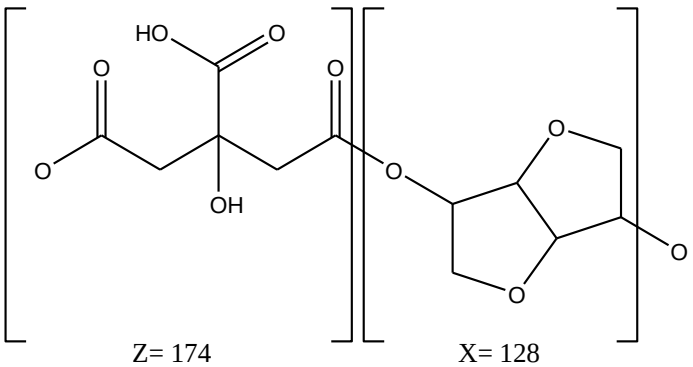

Figura 49 - Fragmento Polimérico - Citrato+Isosorbídeo

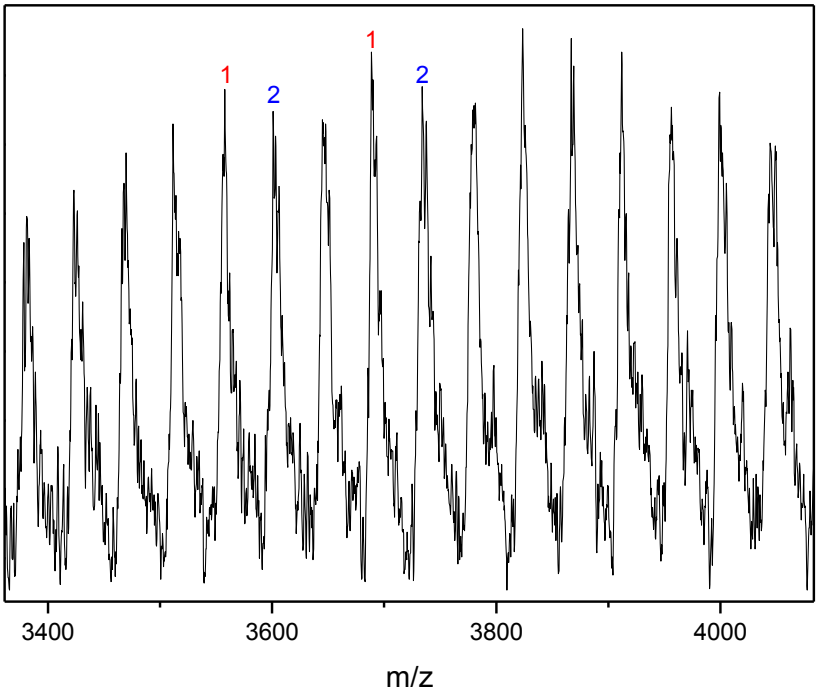

Figura 50 - MALDI-ToF – Polímero Poli(citrato de isosorbila)

Tabela 5 - Análise de MALDI-ToF – Poli(citrato de isosorbila)

	X	Y	Z	EG1	EG2	CS	m/z(teórica)	m/z(exp.)
1	11	0	12	17	45	1	3559	3558
1	12	0	12	17	45	1	3687	3689
2	11	0	12	39	45	23	3603	3602
2	12	0	12	39	45	23	3731	3733

Através dos picos encontrados é possível observar a característica de formação de um homopolímero devido à composição na proporção de 1:1 dos monômeros.

A obtenção do polímero poli(citrato de isosorbila) é de grande interesse por ser um material que ambos os monômeros são provenientes de fonte renovável, ambos aprovados pelo FDA e sendo um deles possuidor de vários princípios ativos,. Além

disso, é possível adicionar funcionalizações subsequentes ao polímero através de grupos ácidos livres advindos da molécula de citrato, como descrito na literatura, caso uma dos grupos carboxílicos da molécula permaneceu intacto durante a síntese. Isto pode ter ocorrido pois os grupos ácidos primários da molécula são muito mais reativos que o grupo ácido terciário, e também muito menos impedidos estericamente. Além disso, este material é inédito na literatura.

Funcionalização com Pantenol

Poli(adipato de pantenila)

Diferente de todos os outros compostos de interesse utilizados neste trabalho, tanto quanto sabemos, o pantenol não foi utilizado em nenhum tipo de polimerização até agora na literatura, e além disso, é a substância bioativa que apresenta maior quantidade de benefícios biológicos desta pesquisa. Inicialmente, porém imaginava-se que seria uma das substâncias mais problemáticas do projeto, devido a grande quantidade de grupos funcionais.

Contudo, o pantenol foi o subprojeto que mostrou melhores resultados neste trabalho, e a que gerou materiais bem sucedidos, com as maiores massas molares de todas analisadas.

Foram sintetizados a partir do pantenol um copolímero com o PIA e dois homopolímeros, com o azelato e o adipato, utilizando as condições padrões de sínteses deste trabalho.

Através da síntese dos homopolímeros com azelato e adipato foi possível estabelecer o melhor diácido a ser utilizado na produção de polímero base para outras funcionalizações. Foi observado que a utilização do azelato apresentou melhores

resultados quanto à massa molar obtida, sendo esse o objetivo inicial por se tratar de um monômero proveniente de fonte renovável e com propriedade biológica.

O ácido azelaico obteve melhores resultados quando comparados com a utilização do ácido atípico em sínteses envolvendo o ácido ascórbico, pois não foram obtidos resultados positivos em nenhuma síntese envolvendo ácido adípico + ácido ascórbico, porem foi possível sintetizar um material contendo ácido azelaico + ácido ascórbico, mostrando assim que a molécula de ácido azelaico é mais versátil em desenvolvimento de novos materiais.

A amostra Po1 refere-se a síntese do homopolímero poli(adipato de pantenila), utilizando o diácido padrão do polímero PIA. Sua síntese foi muito útil nas conclusões de substituição do adipato por azelato, pois análises de GPC caracterizaram a massa molar do polímero obtido com: M_w= 4.000, M_n= 2.000 e PD= 1,5, uma massa molar muito baixa comparada ao polímero de pantenol sintetizado com azelato que obteve um M_w de 52.000 g/mol.

Apesar da massa molar baixa comparada com os demais materiais expostos até agora, não ha relatos de polímeros com pantenol na literatura, assim sendo trata-se também de um material inédito sintetizado.

O material obtido é diferente dos demais sintetizados, onde se obteve um material de plasticidade baixa, e bastante pegajoso, com uma coloração levemente amarelada e um odor levemente adocicado, como encontrado em todas as amostras sintetizadas contendo pantenol. Porém a característica de ser pouco plástico se aplica somente a esta amostra.

O espectro de MALDI-ToF obtido apresenta-se ruidoso, mas não interferindo na caracterização do polímero. Porém é observada uma formação parabólica característica de formação polimérica.

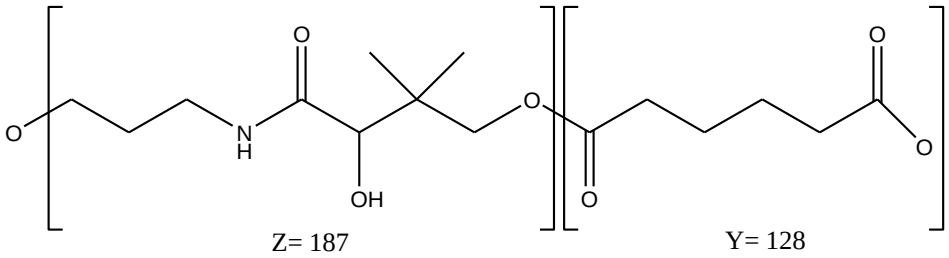

Figura 51 - Fragmento Polimérico - Pantenol+Adipato

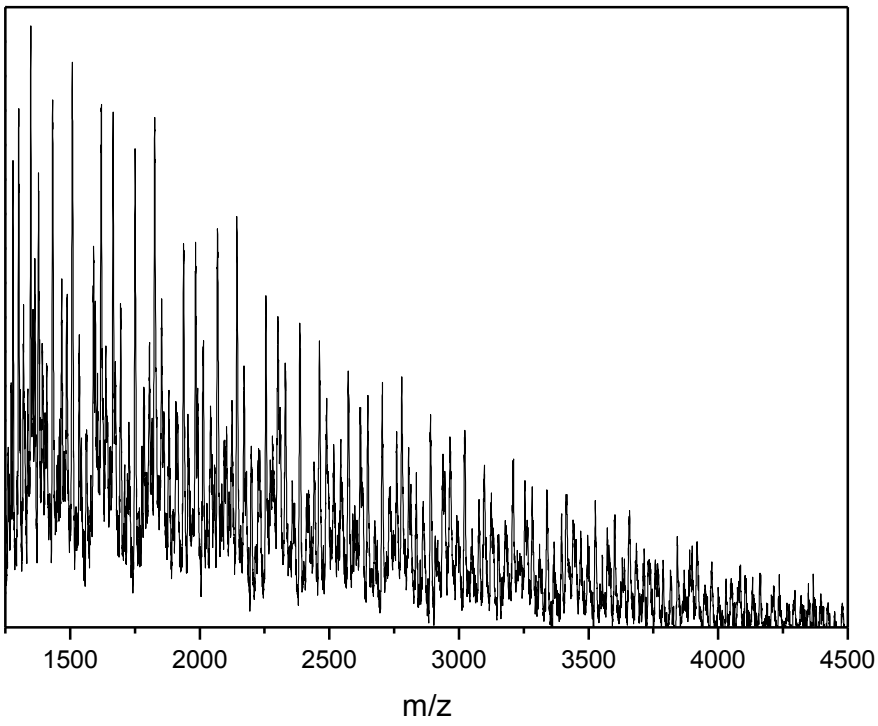

Figura 52 - MALDI-ToF – Polímero poli(adipato de pantenila)

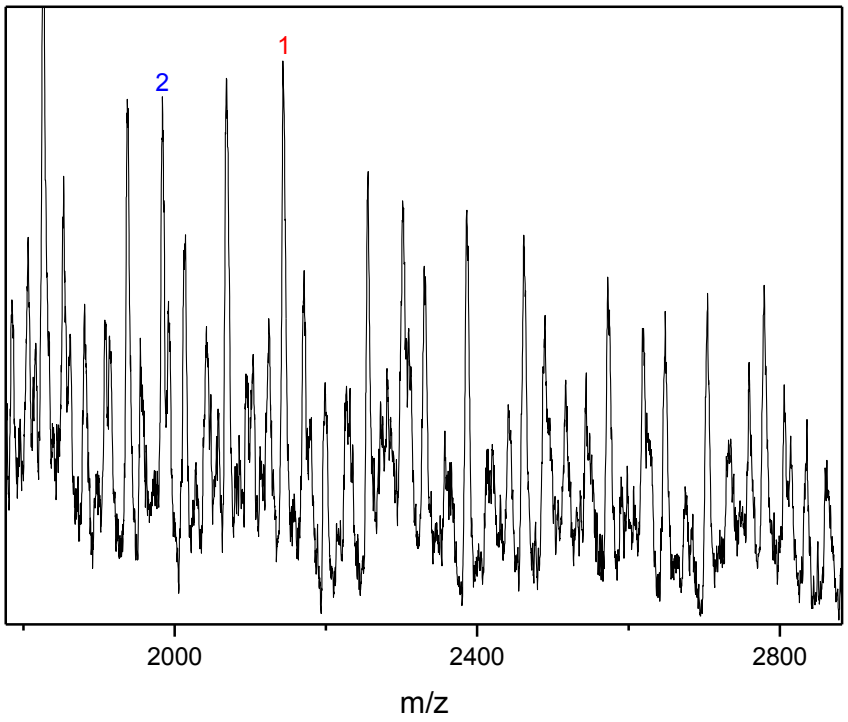

Figura 53 - MALDI-ToF - Polímero poli(adipato de pantenila) (Ampliação da Figura 52)

Tabela 6 - Análise MALDI-ToF – Poli(adipato de pantenila)

	X	Y	Z	EG1	EG2	CS	m/z(teórica)	m/z(exp.)
1	0	6	7	17	45	1	2140	2142
2	0	6	6	45	45	1	1981	1983

Através da análise da tabela 6, caracterizou–se a formação do homopolímero desejado, devido à proporção de 1:1 encontrada.

Diferente do homopolímero de azelato sintetizado, a análise de RMN para o material em questão é necessária para a comprovação da formação do polímero de pantenol + adipato, pois poderia haver a ocorrência de reações em outras partes das moléculas do pantenol que pudessem levar a formação de polímeros não funcionais, devido a clivagem do pantenol em locais indevidos, porém a caracterização feita a baixo

mostra que o pantenol é ligado a cadeia polimérica de forma integra, e portanto não perdendo sua atividade.

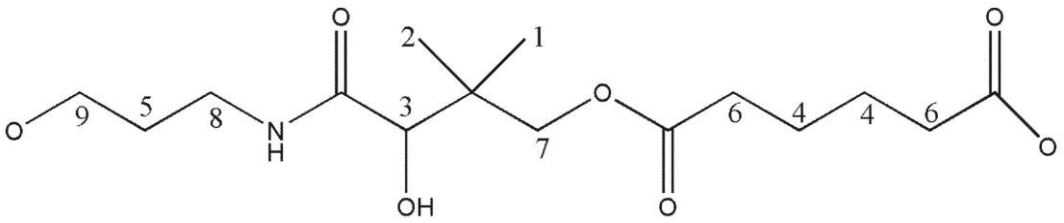

Figura 54 - Esquema da estrutura do polímero Poli(adipato de pantenila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 55

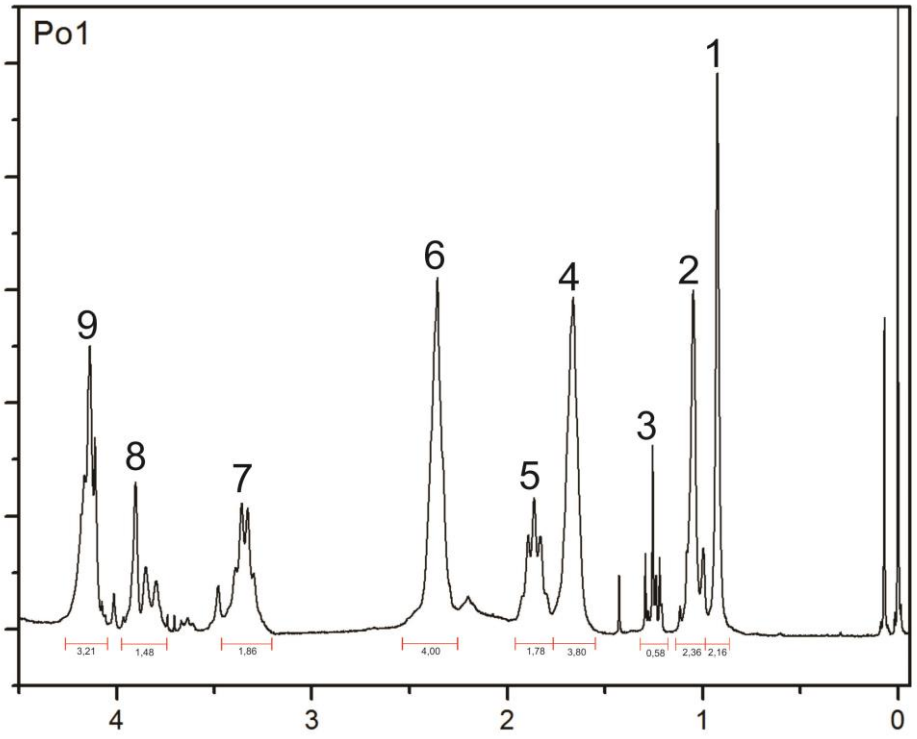

Figura 55 - RMN-^{1}H – Polímero poli(adipato de pantenila)

Poli(adipato de isosorbila co-pantenila)

A amostra PoC1 foi sintetizada com o intuito de obter um copolímero de PIA contendo 10% de pantenol, e assim possibilitar a obtenção de materiais com concentrações variadas da molécula de interesse.

A amostra foi caracterizada através de GPC com: M_w= 15.000, M_n= 5.500 e PD=1,7, uma massa molar baixa comparada os copolímeros de PIA utilizando glicerol e azelato, que obtiveram massa molar de 45.000 e 19.000 g/mol respectivamente, porém as três moléculas são muito diferentes para serem comparadas, sendo que o copolímero contendo glicerol obteve apenas uma inserção da molécula de interesse por cadeia polimérica, e no caso da amostra PoC1 em questão, uma das cadeias poliméricas houve a inserção de quatro moléculas de pantenol, como será demonstrado a seguir na análise de MALDI-ToF.

Através da análise de MALDI-Tof, é possível constatar a formação característica de amostras poliméricas, figura 57, onde é mostrada a poli dispersão de massa atômica da amostra, sendo possível observar uma maior quantidade de moléculas com massa molar em torno de 1500 g/mol, porem esta técnica não é a apropriada para caracterizar a distribuição molar da amostra, e sim a técnica exposta acima de GPC.

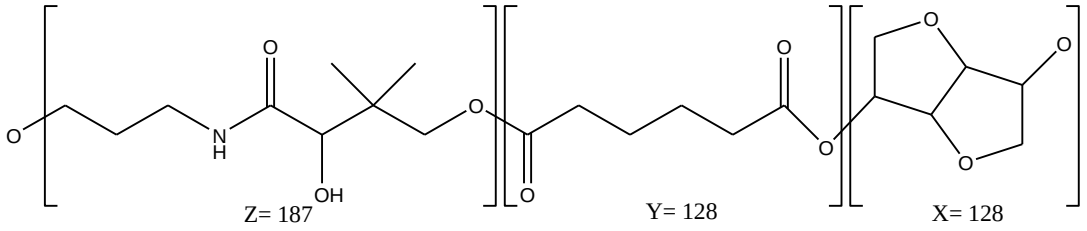

Figura 56 - Fragmento Polimérico - Pantenol+Adipato+Isosorbídeo

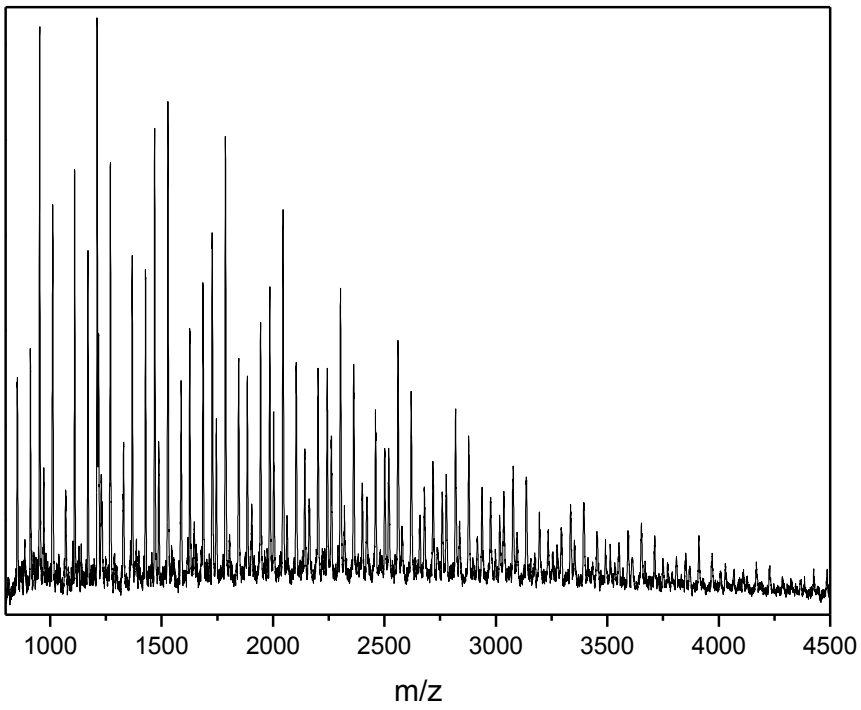

Figura 57 - MALDI-ToF – Polímero Poli(adipato de isosorbila co-pantenila)

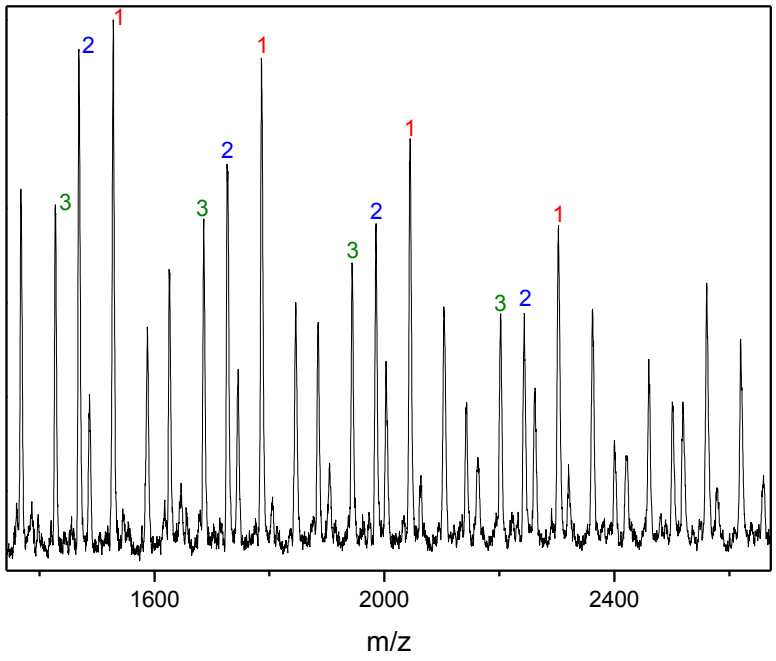

Figura 58 - MALDI-ToF – Poli(adipato de isosorbila co-pantenila) - Ampliação da Figura 57

Tabela 7 - Análise de MALDI-ToF – Poli(adipato de isosorbila co-pantenila)

	X	Y	Z	EG1	EG2	CS	m/z(teórica)	m/z(exp.)
1	6	6	1	17	45	1	1786	1786
1	7	7	1	17	45	1	2042	2042
1	8	8	1	17	45	1	2298	2300
2	3	2	4	17	45	1	1473	1471
2	4	3	4	17	45	23	1729	1728
2	5	4	4	17	45	23	1985	1985
3	5	4	1	45	45	1	1428	1430
3	6	5	1	45	45	1	1686	1684
3	7	6	1	45	45	1	1942	1944

É notada a incorporação em menor número da molécula de interesse comparada ao copolímero de azelato, porém o grupo 2 apresenta a inserção de quatro moléculas de pantenol, o que não ocorrem com o copolímero de glicerol.

Observa-se também que no grupo 2 há uma relação de 1:1:1 dos monômeros, uma proporção muito grande, nem mesmo encontrada nos copolímeros de azelato, onde há uma semelhança muito grande entre os monômeros.

Nota-se também a formação de três grupos de polímeros diferentes, como ocorrem com o citrato, que obteve 2 grupos distintos. Neste caso há três grupos porém dois muito semelhantes, mas de intensidades bem diferentes como é mostrado na figura 58.

Não é observada uma periodicidade da ligação da molécula de interesse no grupo 1 porém nos grupos 2 e 3 nota-se uma proporção muito semelhante entre os picos que não varia conforme a massa molar da cadeia polimérica é aumentada, levando a caracterizar a formação de blocos no polímero.

A análise de RMN, figura 60, caracterizou a formação do polímero desejado, apresentando um espectro de RMN semelhante a fusão da amostra Po1, figura 55, e os picos referentes ao isosorbídeo.

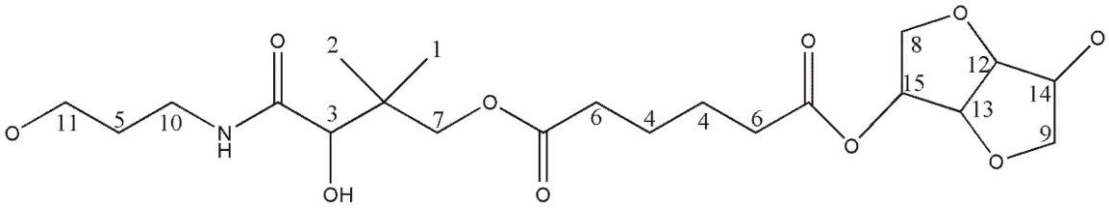

Figura 59 - Esquema da estrutura do polímero Poli(adipato de isosorbila co-pantenila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 60

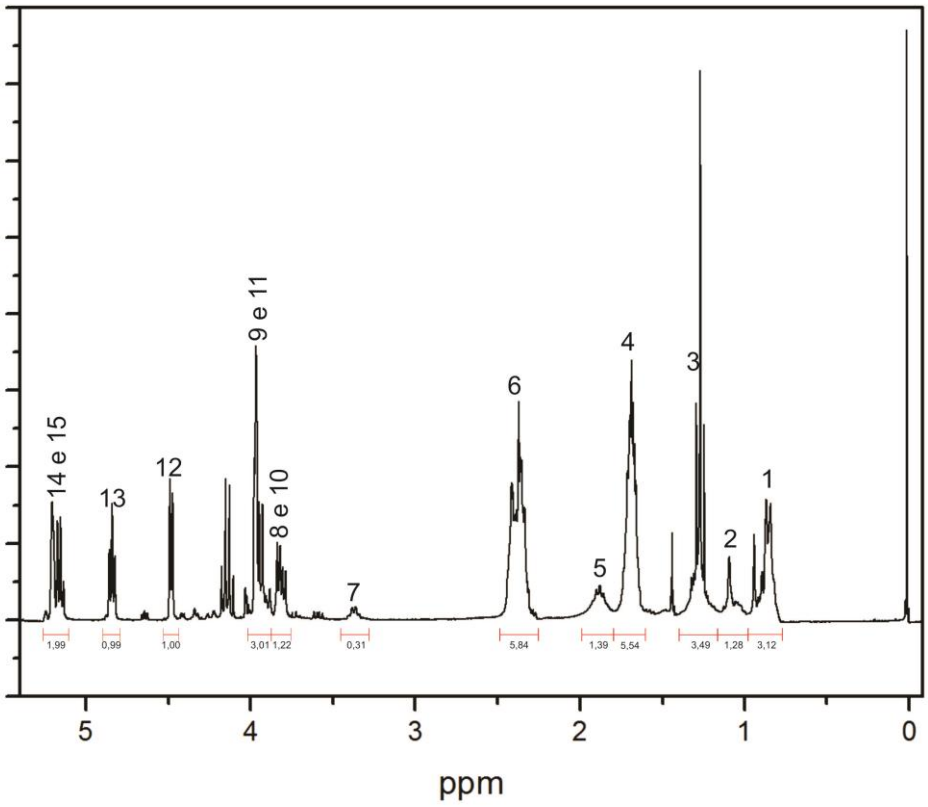

Figura 60 - RMN-^{1}H – Polímero Poli(adipato de isosorbila co-pantenila)

Como trata-se de um copolímero onde é inserido em menor quantidade a molécula de pantenol, é de se esperar sinais menores dos picos pertencentes ao

pantenol, o que é observado na pratica pelo espectro acima, porém todos os picos característicos para tal molécula estão presentes.

Nota-se o aparecimento de um conjunto de picos com sinal intenso próximo ao deslocamento 4,2 proveniente de etilas terminais, porém como a molécula de interesse não possui etilas terminais não se trata de um caso onde não houve reação, trata-se de moléculas de dietil adipato que não reagiram e ficou retido entre as cadeias poliméricas. Contudo como já foi visto anteriormente, foi caracterizada a incorporação da molécula de interesse ao polímero através de análises de MALDI-Tof, e como a molécula de adipato é um link essencial para a formação do polímero tanto com o isosorbídeo como com a pantenol, não haveria a possibilidade de formação do polímero sem o adipato.

Poli(azelato de pantenila)

Como já citado anteriormente a molécula de azelato foi utilizada em diversos trabalhos, sendo uma molécula de grande interesse, porém não foram encontrados relatos de materiais poliméricos contendo azelato que contivessem mais de uma atividade farmacológica. Portanto a amostra AzPo foi sintetizada com o objetivo de criação de um material que contivesse duas moléculas biologicamente ativas, sendo uma delas, o pantenol, nunca explorada em materiais poliméricos.

Análise de GPC caracterizou a formação do polímero com: M_w= 52.000, M_n= 9.000, uma massa molar acima das expectativas devido a complexidade da molécula de pantenol e a inexistência de polímeros com esta molécula na literatura.

Tratando-se também do melhor resultado obtido no trabalho, com a maior massa molar sintetizada, sendo ainda maior que o próprio PIA como polímero padrão.

A amostra em questão superou de longe as expectativas criadas por este trabalho, onde foi possível obter um material com duas moléculas com funções

bioativas, sendo também um polímero totalmente proveniente de fonte de matéria renovável, sendo obtida através de síntese branda utilizando a enzima CAL-B seguindo os procedimentos padrões de síntese adotados neste trabalho.

O material obtido possui plasticidade alta como as demais amostras de PIA e amostras contendo azelato, diferenciando apenas na presença de um odor adocicado e coloração levemente amarelada, presentes em todas as amostras sintetizadas utilizando pantenol.

É possível verificar através de análise de MALDI-ToF o perfil característico da formação polimérica.

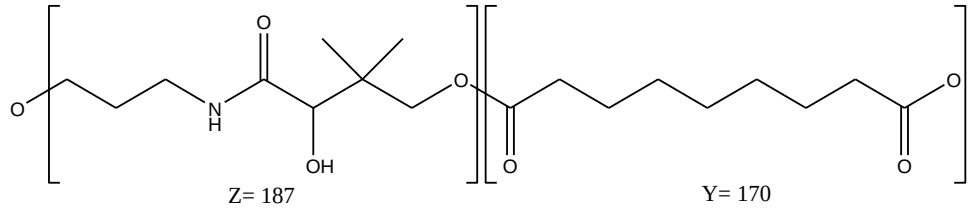

Figura 61 - Fragmento Polimérico - Pantenol+Azelato

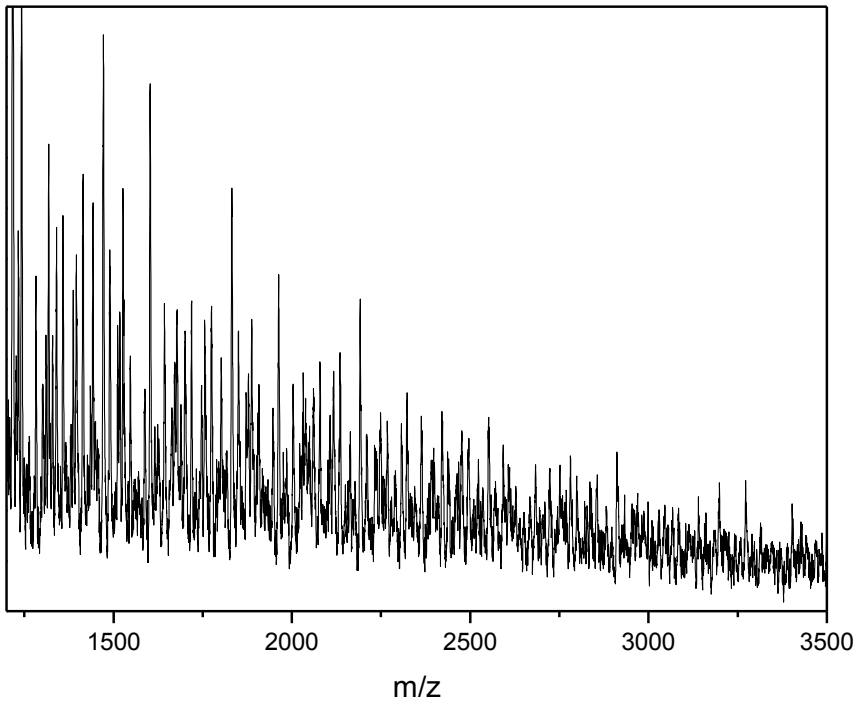

Figura 62 - MALDI-ToF – Poli(azelato de pantenila)

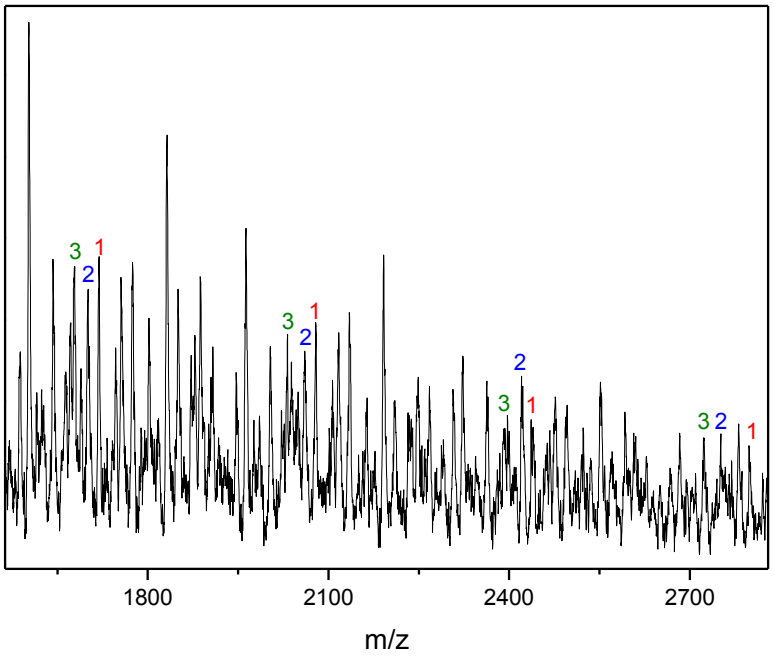

Figura 63 - MALDI-ToF – Poli(azelato de pantenila) - Ampliação da Figura 62

Como na amostra sintetizada utilizando adipato e pantenol, é observado novamente um espectro ruidoso, provavelmente devido à característica polar da molécula.

Tabela 8 - Análise de MALDI-ToF – Poli(azelato de pantenila)

	X	Y	Z	EG1	EG2	CS	m/z(teórica)	m/z(exp.)
1	0	4	5	39	45	23	1722	1720
1	0	5	6	39	45	23	2079	2079
1	0	6	7	39	45	23	2436	2436
2	0	4	5	17	45	23	1700	1700
2	0	5	6	17	45	23	2057	2059
2	0	6	7	17	45	23	2414	2416
3	0	5	4	17	39	23	1677	1677
3	0	6	5	17	39	23	2034	2032
3	0	7	6	17	39	23	2391	2391

É possível caracterizar a formação do homopolímero através da proporção de 1:1 formada entre os monômeros, como é demonstrado na tabela acima.

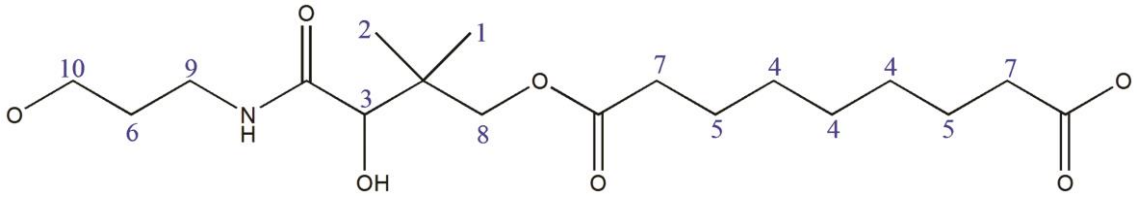

Figura 64 - Esquema da estrutura do polímero Poli(azelto de pantenila), com os hidrogênios classificados conforme o RMN da figura 65

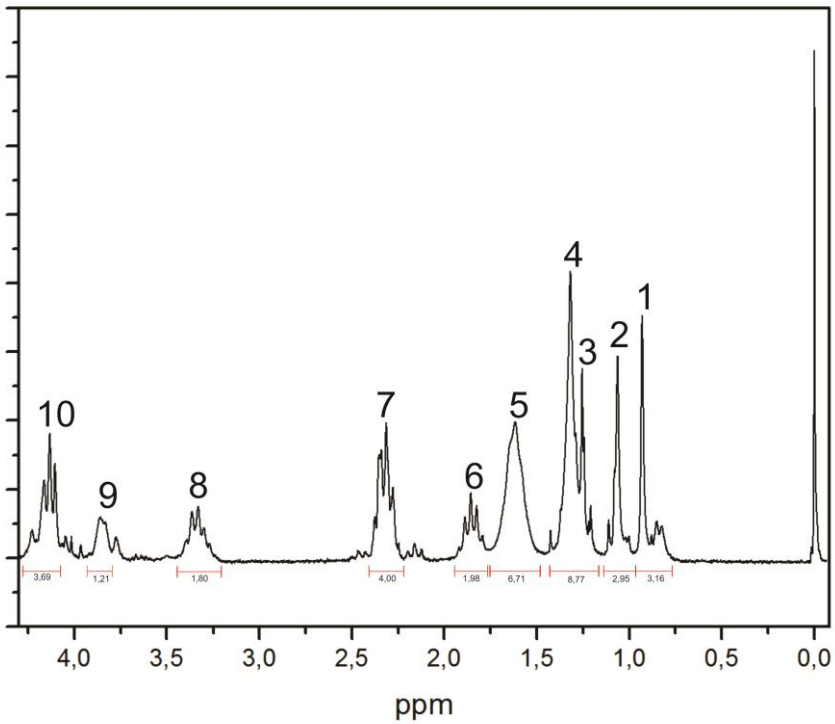

Figura 65 - RMN-^{1}H – Poli(azelato de pantenila)

A análise de RMN-^{1}H apresenta picos característicos já apresentados anteriormente para ambas as moléculas presente neste polímero.

Funcionalização com Ácido Ascórbico

Poli(azelato de ascorbila)

Apesar de a molécula de ácido ascórbico já ter sido utilizada em sínteses poliméricas, não há relatos na literatura de polímeros provenientes de matéria renovável e sintetizados por via enzimática.

Neste trabalho foram realizados diversos estudos para polimerização do ácido ascórbico, porém só foi obtido algum resultado positivo para a amostra AsAz1, que foi sintetizada com o intuito de obter um homopolímero de ácido ascórbico + azelato. Este

seria um polímero com ambos os monômeros possuidores de atividade biológica e provenientes totalmente de matéria renovável, sendo este material também sintetizado por catálise enzimática.

Porem como foi realizada somente uma caracterização deste material, utilizando MALDI-ToF e estes resultados foram poucos conclusivos, a pesar de indicar uma polimerização, decidiu-se por não expô-los neste trabalho.

Funcionalização com Pantolactona

Polipantolactona

Após os excelentes resultados alcançados com as amostras de pantenol, surgiu a ideia de síntese de um material puramente constituído desta molécula. Para isso optou-se por utilizar síntese por abertura de anel através da lactona do pantenol, a pantolactona, um tipo de síntese muito utilizado em polimerizações na literatura, sendo possível de ser realizadas sem a utilização de solventes. Assim, foram realizas dois tipos de sínteses, uma em massa utilizando CAL-B e outra em clorofórmio, também utilizando CAL-B, porém somente a realizada em massa apresentou sinais de polimerização.

Análise de GPC da amostra Pl1 apresentou valores de M_w= 790 e M_n= 750, ou seja apenas oligômeros, porém como já dito anteriormente, não existem relatos de estudos de polimerização envolvendo pantenol e nem mesmo com pantolactona na literatura.

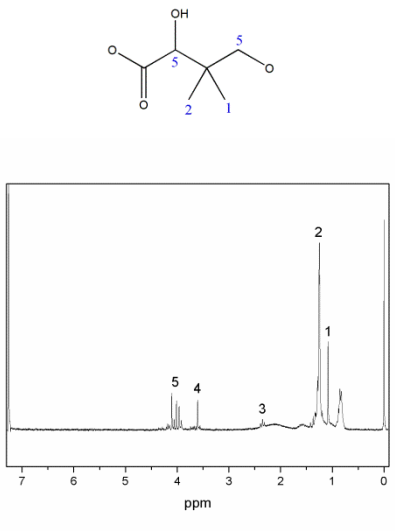

Figura 66 - RMN-^{1}H - Amostra Pl1

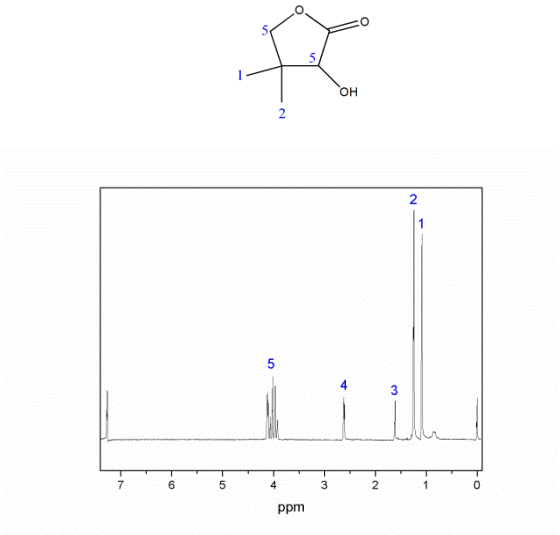

Figura 67 - RMN-^{1}H - Pantolactona Pura

Análise por RMN-^{1}H demonstrou o aparecimento de um halo na região de deslocamento próximo a 2ppm, o que pode ser proveniente das hidroxilas terminais do polímero formado, sendo um indício da formação do polímero de pantolactona.

5 - Conclusões

Apesar de terem sido sintetizados diversos materiais durante esta pesquisa foram selecionados apenas 9 materiais que tiveram os melhores resultados e cujos resultados apresentaram maior elucidação de suas estruturas. São eles:

- Poli(azelato de pantenila)
- Poli(adipato de pantenila)
- Poli(adipato de isosorbila-co-pantenila)
- Poli(azelato de isosorbila)
- Poli(adipato-co-azelato de isosorbila)
- Poli(citrato de isosorbila)
- Poli(adipato de isosorbila-co-citrato)
- Poli(adipato de isosorbila-co-glicerol)
- Oligômero de polipantolactona

Como exposto pelo próprio objetivo do trabalho acima, o foco utilizado nesta pesquisa foi no método de obtenção de polímeros contendo em suas estruturas monômeros biologicamente ativos, sintetizados a partir de síntese via catálise enzimática, e a partir deste objetivo foram obtidos claramente 8 materiais poliméricos e 1 composto de oligômeros, contendo as moléculas bioativas: pantenol, ácido cítrico, ácido azelaico e pantolactona além de um material contendo glicerol, servindo como precursor para funcionalizações subsequentes.

Destes materiais obtidos, os que apresentaram resultados mais promissores foram os materiais sintetizados a partir de pantenol, que além de nunca terem sido utilizados em sínteses poliméricas, obtiveram também as maiores massas molares deste trabalho.

O pantenol produziu três materiais diferentes cujas caracterizações foram bem elucidadas, sendo estes: poli(adipato de isosorbila–co-pantenol), poli(adipato de pantenila) e o melhor material obtido neste trabalho o polímero poli(azelato de pantenila) que obteve massa molar de 52.000 g/mol.

O ácido azeláico também foi uma molécula bem sucedida nas sínteses realizadas, compondo ainda mais materiais que a molécula de pantenol, sendo eles: poli(azelato de pantenila) já citado, poli(adipato de isosorbila co-zelato) que obteve uma massa molar de 36.000 g/mol, e poli(azelato de isosorbila).

O ácido cítrico esta presente em dois dos materiais obtidos, sendo eles: poli(adipato de isosorbila co-citrato) com massa molar de 19.000 g/mol e poli(citrato de isosorbila).

A partir do glicerol foi obtido apenas um copolímero o poli(adipato de isosorbila co-glicerol) com massa molar de 45.000 g/mol, que poderá ser utilizado para futuras adições de moléculas bioativas ao polímero, através das hidroxilas secundárias do glicerol inseridas nas cadeias poliméricas.

A partir da pantolactona foram obtidos apenas oligômeros.

A partir do ácido ricinoleico e do ácido pantotênico não foram obtidos resultados positivos, consequência principalmente das sínteses mal sucedidas de esterificação destas moléculas precursoras. Devido a grande complexidade dessas moléculas, e a presença de muitos grupos funcionais que levaram a reações indesejadas, que acabaram por dificultar as esterificações necessárias para a polimerização.

Conclui-se que a substituição do poli(adipato de isosorbila) por poli(azelato de isosorbila) como polímero padrão para funcionalizações é possível, devido a melhores resultados obtidos utilizando o monômero azelato, possibilitando assim a utilização de um polímero padrão totalmente sintetizado a partir de fonte renovável.

Em média as reações realizadas neste trabalho tiveram um rendimento que variaram de 50 a 80%, tendo uma média geral de 70%, sendo assim um bom aproveitamento, sendo também que a enzima utilizada foi 100% recuperada em todas as reações, o que torna a técnica eficiente e ambientalmente correta.

Tem-se como conclusão final que é possível a funcionalização de polímeros provenientes de biomassa com monômeros bioativos sintetizados via catálise enzimática, sendo que foram obtidos 9 materiais neste trabalho, nunca antes sintetizados na literatura.

É necessária agora a realização de estudos de degradação destes materiais a fim de caracterizar a cinética de liberação das moléculas bioativas, assim como realizar análises de toxicidade destes materiais para que possam ser utilizados como materiais para fins biológicos.

7 – Bibliografia

1. Kricheldof, H. R.; Gomourachvili, Z., Aliphatic polyesters and poly(ester-anhydride)s by polycondensation of silylated aliphatic diols. *Macromolecular Chemistry and Physics* 1997**,** *198*, 3149-3160.

2. Domb, A. J.; Bar-Cochva Biodegradable Polymer Blends For Drug Delivery. 1992.

3. Chatti, S.; Bortolussi, M.; Bogdal, D.; Blais, J.; Loupy, A., Synthesis and properties of new poly(ether–ester)s containing aliphatic diol based on isosorbide. Effects of the microwave-assisted polycondensation. *European Polymer Journal* 2005**,** *42* (2), 410-424.

4. Hans R. Kricheldorf, S. C., Gert Schwarz, Ralf-p. Kru¨ Ger, Macrocycles 27: Cyclic Aliphatic Polyesters of Isosorbide. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 2003.

5. S. Chatti a, M. B. a., A. Loupy a,*, J.C. Blais b, D. Bogdal c,M. Majdoub d, Efficient synthesis of polyethers from isosorbide by microwave-assisted phase transfer catalysis. 2002.

6. Thiem, J.; Luders, H., Synthesis and Properties of Polyurethanes Derived from Diaminodianhydroalditols. *Makromol Chem* 1986**,** *187* (12), 2775-2785.

7. Chatti, S.; Kricheldorf, H., Copolyesters of ε-Caprolactone, Isosorbide and Suberic Acid by Ring-Opening Copolymerization. *Journal of Macromolecular Science, Part A* 2006**,** *43* (7), 967-975.

8. Wiggins, R. M. d. L. F., The Anhydrides of Polyhydric Alcohols. Part IV. The Constitution of Dianhydro Sorbitol. 1946.

9. Jenkins, V. F., Mott A., Wicker R.J. Unsaturated polyesters and polyester compositions. 22533/58, 1958.

10. Frank Bachmanna, J. R., Marcus Ruppenstein, Joachim Thiem, Synthesis of a novel starch-derived AB-type polyurethane. *Macromol. Rapid Commun* 1997**,** *19*, 21-26.

11. Yokoe, M.; Aoi, K.; Okada, M., Biodegradable polymers based on renewable resources. VII. Novel random and alternating copolycarbonates from 1,4 : 3,6-dianhydrohexitols and aliphatic diols. *J Polym Sci Pol Chem* 2003**,** *41* (15), 2312-2321.

12. Brandenburg, C. J. H., Richard Allen Process to produce polyesters which incorporate isosorbide. US 20030204029, 2002.

13. Juais, D.; Naves, A. F.; Li, C.; Gross, R. A.; Catalani, L. H., Isosorbide Polyesters from Enzymatic Catalysis. *Macromolecules* 2010**,** *43* (24), 10315-10319.

14. Gross, R. A.; Kumar, A.; Kalra, B., Polymer Synthesis by In Vitro Enzyme Catalysis. *Chemical Reviews* 2001**,** *101* (7), 2097-2124.

15. Zaks, A.; Klibanov, A. M., Enzymatic Catalysis in Nonaqueous Solvents. *J Biol Chem* 1988**,** *263* (7), 3194-3201.

16. Klibanov, A. M., Improving enzymes by using them in organic solvents. *Nature* 2001**,** *409* (6817), 241-246.

17. Pandey, A.; Selvakumar, P.; Soccol, C. R.; Nigam, P., Solid state fermentation for the production of industrial enzymes. *Curr Sci India* 1999**,** *77* (1), 149-162.

18. Klibanov, A. M., Asymmetric transformations catalyzed by enzymes in organic solvents. *Accounts of Chemical Research* 1990**,** *23* (4), 114-120.

19. Villeneuve, P.; Muderhwa, J. M.; Graille, J.; Haas, M. J., Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. *J Mol Catal B-Enzym* 2000**,** *9* (4-6), 113-148.

20. Tsujimoto, T.; Uyama, H.; Kobayashi, S., Enzymatic Synthesis of Cross-Linkable Polyesters from Renewable Resources. *Biomacromolecules* 2001**,** *2* (1), 29-31.

21. Uyama, H.; Inada, K.; Kobayashi, S., Lipase-catalyzed synthesis of aliphatic polyesters by polycondensation of dicarboxylic acids and glycols in solvent-free system. *Polym J* 2000**,** *32* (5), 440-443.

22. Matsumura, S.; Takahashi, J., Enzymatic-Synthesis of Functional Oligomers .1. Lipase Catalyzed Polymerization of Hydroxy-Acids. *Makromol Chem-Rapid* 1986**,** *7* (6), 369-373.

23. Knani, D.; Gutman, A. L.; Kohn, D. H., Enzymatic Polyesterification in Organic Media - Enzyme-Catalyzed Synthesis of Linear Polyesters .1. Condensation Polymerization of Linear Hydroxyesters .2. Ring-Opening Polymerization of Epsilon-Caprolactone. *J Polym Sci Pol Chem* 1993**,** *31* (5), 1221-1232.

24. Namekawa, S.; Suda, S.; Uyama, H.; Kobayashi, S., Lipase-catalyzed ring-opening polymerization of lactones to polyesters and its mechanistic aspects. *Int J Biol Macromol* 1999**,** *25* (1-3), 145-151.

25. Ebata, H.; Toshima, K.; Matsumura, S., Lipase-Catalyzed Synthesis and Curing of High-Molecular-Weight Polyricinoleate. *Macromolecular Bioscience* 2007**,** *7* (6), 798-803.

26. Varma, I. K.; Albertsson, A. C.; Rajkhowa, R.; Srivastava, R. K., Enzyme catalyzed synthesis of polyesters. *Prog Polym Sci* 2005**,** *30* (10), 949-981.

27. Motta, V. T. d., *Bioquímica*. EDUCS - Editora da Universidade de Caxias do Sul: 2005.

28. Uyama, H.; Kuwabara, M.; Tsujimoto, T.; Kobayashi, S., High-performance immobilized lipase catalyst for polyester synthesis. *Polym J* 2002**,** *34* (12), 970-972.

29. Haeffner, F.; Norin, T., Molecular modelling of lipase catalysed reactions. Prediction of enantioselectivities. *Chem Pharm Bull* 1999**,** *47* (5), 591-600.

30. Jin, Z.; Ntwali, J.; Han, S. Y.; Zheng, S. P.; Lin, Y., Production of flavor esters catalyzed by CALB-displaying Pichia pastoris whole-cells in a batch reactor. *J Biotechnol* **2012,** *159* (1-2), 108-114.

31. Bhangale, A. S.; Beers, K. L.; Gross, R. A., Enzyme-Catalyzed Polymerization of End-Functionalized Polymers in a Microreactor. *Macromolecules* 2012**,** *45* (17), 7000-7008.

32. Silveira, R. L.; Martinez, J.; Skaf, M. S.; Martinez, L., Enzyme Microheterogeneous Hydration and Stabilization in Supercritical Carbon Dioxide. *J Phys Chem B* 2012**,** *116* (19), 5671-5678.

33. Gupta, S.; Pandey, M. K.; Levon, K.; Haag, R.; Watterson, A. C.; Parmar, V. S.; Sharma, S. K., Biocatalytic Approach for the Synthesis of Glycerol-Based Macroamphiphiles and their Self-Assembly to Micellar Nanotransporters. *Macromolecular Chemistry and Physics* 2010**,** *211* (2), 239-244.

34. Agach, M.; Delbaere, S.; Marinkovic, S.; Estrine, B.; Nardello-Rataj, V., Characterization, stability and ecotoxic properties of readily biodegradable branched oligoesters based on bio-sourced succinic acid and glycerol. *Polymer Degradation and Stability* 2012**,** *97* (10), 1956-1963.

35. (a) Fu, H. Y.; Kulshrestha, A. S.; Gao, W.; Gross, R. A.; Baiardo, M.; Scandola, M., Physical characterization of sorbitol or glycerol containing aliphatic copolyesters synthesized by lipase-catalyzed polymerization. *Macromolecules* 2003**,** *36* (26), 9804-9808; (b) Kulshrestha, A. S.; Gao, W.; Gross, R. A., Glycerol copolyesters: Control of branching and molecular weight using a lipase catalyst. *Macromolecules* 2005**,** *38* (8), 3193-3204; (c) Hu, J.; Gao, W.; Kulshrestha, A.; Gross, R. A., "Sweet polyesters": Lipase-catalyzed condensation - Polymerizations of alditols. *Macromolecules* 2006**,** *39* (20), 6789-6792.

36. Iglesias, L. E.; Fukuyama, Y.; Nonami, H.; Erra-Balsells, R.; Baldessari, A., A simple enzymatic procedure for the synthesis of a hydroxylated polyester from glycerol and adipic acid. *Biotechnology Techniques* 1999**,** *13*, 923–926.

37. Torres, C. F.; Garcia, H. S.; Ries, J. J.; Hill, C. G., Esterification of glycerol with conjugated linoleic acid and long-chain fatty acids from fish oil. *J Am Oil Chem Soc* **2001,** *78* (11), 1093-1098.

38. Djordjevic, I.; Choudhury, N. R.; Dutta, N. K.; Kumar, S., Synthesis and characterization of novel citric acid-based polyester elastomers. *Polymer* 2009**,** *50* (7), 1682-1691.

39. Zhang, X.-Q.; Tang, H.; Hoshi, R.; De Laporte, L.; Qiu, H.; Xu, X.; Shea, L. D.; Ameer, G. A., Sustained transgene expression via citric acid-based polyester elastomers. *Biomaterials* 2009**,** *30* (13), 2632-2641.

40. Noordover, B. A. J.; Duchateau, R.; van Benthem, R. A. T. M.; Ming, W.; Koning, C. E., Enhancing the Functionality of Biobased Polyester Coating Resins through Modification with Citric Acid. *Biomacromolecules* 2007**,** *8* (12), 3860-3870.

41. Yao, F.; Bai, Y.; Chen, W.; An, X.; Yao, K.; Sun, P.; Lin, H., Synthesis and characterization of functional -lactic acid/citric acid oligomer. *European Polymer Journal* 2004**,** *40* (8), 1895-1901.

42. Tsutsumi, N.; Oya, M.; Sakai, W., Biodegradable Network Polyesters from Gluconolactone and Citric Acid. *Macromolecules* 2004**,** *37* (16), 5971-5976.

43. Adeli, M.; Bahari, A.; Hekmatara, H., Carbon nanotube-graft-poly(citric acid) nanocomposites. *Nano* 2008**,** *3* (1), 37-44.

44. Zhang, J.; Doll, B. A.; Beckman, E. J.; Hollinger, J. O., A biodegradable polyurethane-ascorbic acid scaffold for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2003**,** *67A*, 389–400.

45. Wang, Y.; Singh, A.; Xu, P.; Pindrus, M.; Blasioli, D.; Kaplan, D., Expansion and osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on a vitamin C functionalized polymer. *Biomaterials* 2006, *27* (17), 3265-3273.

46. Liu, N.; Luan, Y. S.; Su, S.; Fang, G. Z., Study of Synthesis Process of L-ascorbic acid cellulose ester. *Adv Mater Res-Switz* 2012, *510*, 555-558.

47. Singh, A.; Kaplan, D. L., Biocatalytic route to ascorbic acid-modified polymers for free-radical scavenging. *Adv Mater* 2003, *15* (15), 1291-+.

48. Kumar, A.; Narayan, V.; Prasad, O.; Sinha, L., Monomeric and dimeric structures, electronic properties and vibrational spectra of azelaic acid by HF and B3LYP methods. *J Mol Struct* 2012, *1022*, 81-88.

49. Petiaud, R.; Coyard, H.; Pham, Q. T., Bulk Copolyesterification of Azelaic Acid, O-Phthalic Anhydride and Trimethylolpropane - Statistical Distributions of Acid Branches on Triol Units Studied by C-13 N.M.R. *Polymer* 1995, *36* (22), 4309-4313.

50. Papageorgiou, G. Z.; Achilias, D. S.; Bikiaris, D. N., Crystallization Kinetics and Melting Behaviour of the Novel Biodegradable Polyesters Poly(propylene azelate) and Poly(propylene sebacate). *Macromolecular Chemistry and Physics* 2009, *210* (1), 90-107.

51. Finelli, L.; Lotti, N.; Munari, A., Thermal properties of poly(butylene oxalate) copolymerized with azelaic acid. *European Polymer Journal* 2002, *38* (10), 1987-1993.

52. Ravi, A.; Nanthini, R.; Karunanidhi, M.; Jaisankar, V., Synthesis and Characterization of Certain Biodegradable Random Aliphatic Copolyesters. *Asian J Chem* 2011, *23* (2), 556-560.

53. Dieter, J. A.; Frisch, K. C.; Shanafel.Gk; Devanney, M. T., Thermoplastic Urethane Elastomers. *Rubber Age* 1974, *106* (7), 49-56.

54. Papageorgiou, G. Z.; Bikiaris, D. N.; Achilias, D. S.; Papastergiadis, E.; Docoslis, A., Crystallization and biodegradation of poly(butylene azelate): Comparison with poly(ethylene azelate) and poly(propylene azelate). *Thermochim Acta* 2011, *515* (1-2), 13-23.

55. del Valle, L. J.; Diaz, A.; Royo, M.; Rodriguez-Galan, A.; Puiggali, J., Biodegradable polyesters reinforced with triclosan loaded polylactide micro/nanofibers: Properties, release and biocompatibility. *Express Polym Lett* 2012, *6* (4), 266-282.

56. Bletsos, I. V.; Hercules, D. M.; Vanleyen, D.; Benninghoven, A.; Karakatsanis, C. G.; Rieck, J. N., Structural Characterization of Model Polyester Polyurethanes Using Time-of-Flight Secondary Ion Mass-Spectrometry. *Macromolecules* 1990, *23* (18), 4157-4163.

57. Krigbaum, W. R.; Ciferri, A.; Acierno, D., The Formation of Fibers from Semiflexible Thermotropic Polyesters. *Appl Polym Symp* 1985, (41), 293-305.

58. Zolin, V. F.; Koreneva, L. G., Use of Rare-Earths as Probes for Biological Compounds Investigations .4. Luminescence Spectra and Structure of Europium-Nucleotides Compounds. *Biofizika+* 1976, *21* (1), 55-59.

59. Gaillard, C. P., Jacques, Granular nitrocellulose. 1971.

60. Hull, C. F., Formability control of poly(ethylene terephthalate) copolymers. 1971; Vol. US 3554976.

61. Belavtseva, E. M.; Gumargalieva, K. Z., Investigation of Synthetic Polymers and Molecular Crystals by the Negative Contrast Method. *Ind Lab+* 1963, *29* (8), 1037-1038.

62. Saliba, K. J.; Ferru, I.; Kirk, K., Provitamin B5 (Pantothenol) Inhibits Growth of the Intraerythrocytic Malaria Parasite. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005**,** *49* (2), 632-637.

63. Kumar, P.; Chhibber, M.; Surolia, A., How pantothenol intervenes in Coenzyme-A biosynthesis of Mycobacterium tuberculosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2007, *361* (4), 903-909.

64. Spry, C.; Chai, C. L. L.; Kirk, K.; Saliba, K. J., A Class of Pantothenic Acid Analogs Inhibits Plasmodium falciparum Pantothenate Kinase and Represses the Proliferation of Malaria Parasites. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005, *49* (11), 4649-4657.

65. Castellan, A.; Bart, J. C. J.; Cavallaro, S., Industrial-Production and Use of Adipic Acid. *Catal Today* 1991, *9* (3), 237-254.

66. Liu, H. Y.; Kar, N.; Edgar, K. J., Direct synthesis of cellulose adipate derivatives using adipic anhydride. *Cellulose* 2012, *19* (4), 1279-1293.

67. Hou, L.-c. M., Qing-jie; Wang, Ning; Zhang, Xing-xiang, Fabrication of amino multi-walled carbon nanotubes. *Tianjin Gongye Daxue Xuebao* 2011, *30* (6), 9-14.

68. Zhang, B. R.; Chen, Y. N.; Li, F. T., Inhibitory effects of poly(adipic acid/amine-terminated polyether D230/diethylenetriamine) on colloidal silica formation. *Colloid Surface A* 2011, *385* (1-3), 11-19.

69. Cai, G. W., Eli; Zhang, Lijing, Study on synthesis of poly (adipic acid-1, 4-butanediyl) ester using Ti(Obu)4/TiO2-Al2O3 as catalyst. *Yingyong Huagong* 2008, *37* (6), 667-669.

70. Zhang, M. Y., Xiao-Ling; Wei, Yun-Huan, Synthesis of aliphatic polyester containing hydroxyl group with polycondensation. In *Proceedings of International Forum on Green Chemical Science & Engineering and Process Systems Engineering*, Tianjin Laboratory of Green Chemical Science and Engineering
Tianjin, Peop. Rep. China: Tianjin, China, Oct. 8-10, 2006, 2006; Vol. 2, pp 844-846.

71. Pfeifer, B. A.; Burdick, J. A.; Little, S. R.; Langer, R., Poly(ester-anhydride): poly(beta-amino ester) micro- and nanospheres: DNA encapsulation and cellular transfection. *International Journal of Pharmaceutics* 2005, *304* (1-2), 210-219.

72. Zion, T. C. S., Dennis E.; Yoon, Hichang; Ezenyilimba, Matthew C. A method for preparation of polymer particles with controlled shape useful for electrophotographic toners. 2002.

73. Shuai, X. T.; Tan, H. M.; Jedlinski, Z., Nonlinear biodegradable polyanhydrides synthesized from natural fatty acids through a new way. *Polym Bull* 1997, *39* (1), 21-28.

74. Zhu, K. J.; Lei, Y. A., Preparation, characterization and biodegradation characteristics of poly(adipic anhydride-co-D,L-lactide). *Polym Int* 1997, *43* (3), 210-216.

75. Stegemann, W. Synthetic elastomers. 1957.

76. Shin, S. W.; Lee, S. H., Synthesis and Thermal Degradation of Poly(oxydiethylene adipate urethane) Composites Containing Cloisite 30B and Melamine Phosphate. *Polym-Korea* 2012, *36* (5), 643-650.

77. Amici, K. I. C., Gabriele; Li Bassi, Giuseppe; Mercatali, Stefania Anionic polyurethane aqueous dispersions. 2012.

78. Ojijo, V.; Malwela, T.; Ray, S. S.; Sadiku, R., Unique isothermal crystallization phenomenon in the ternary blends of biopolymers polylactide and poly[(butylene succinate)-co-adipate] and nano-clay. *Polymer* 2012, *53* (2), 505-518.

79. Ren, J. L., Yongfeng; Gao, Shigang; Lu, Chong; Cheng, Shujun, Toughing of polylactic acid by blending with poly(adipate-co-propanetriol). *Huagong Xinxing Cailiao* 2008, *36* (9), 69-70, 81.

80. Furukawa, M.; Shiiba, T.; Murata, S., Mechanical properties and hydrolytic stability of polyesterurethane elastomers with alkyl side groups. *Polymer* 1999, *40* (7), 1791-1798.

81. Juais, D. Produção de Polímeros Derivados de Fontes Renováveis Via Catálise Enzimática. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

82. Dinarvand, R.; Alimorad, M. M.; Amanlou, M.; Akbari, H., In vitro release of clomipramine HCL and buprenorphine HCL from poly adipic anhydride (PAA) and poly trimethylene carbonate (PTMC) blends. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2005, *75A* (1), 185-191.

83. Vieira, C.; Fetzer, S.; Sauer, S. K.; Evangelista, S.; Averbeck, B.; Kress, M.; Reeh, P. W.; Cirillo, R.; Lippi, A.; Maggi, C. A.; Manzini, S., Pro- and anti-inflammatory actions of ricinoleic acid: similarities and differences with capsaicin. *N-S Arch Pharmacol* 2001, *364* (2), 87-95.

84. Manresa Presas, M. A. B. S., Antonio; Gomez Carrasco, Jose Luis; Gomez Gomez, Elisa; Bastida Rodriguez, Josefa; Maximo Martin, Ma. Fuensanta; Hidalgo Montesinos, Asuncion Ma.; Montiel Morte, Ma. Claudia Method for obtaining polyglycerol polyricinoleate. 2008.

85. Kelly, A. R.; Hayes, D. G., Lipase-catalyzed synthesis of polyhydric alcohol-poly(ricinoleic acid) ester star polymers. *Journal of Applied Polymer Science* 2006, *101* (3), 1646-1656.

86. Vieira, C.; Evangelista, S.; Cirillo, R.; Lippi, A.; Maggi, C. A.; Manzini, S., Effect of ricinoleic acid in acute and subchronic experimental models of inflammation. *Mediators of Inflammation* 2000, *9* (5), 223-228.

87. Manzini, S. V., Celme; Cirillo, Rocco Pharmaceutical compositions containing ricinoleic acid and their use in anti-inflammatory and analgesic therapy. 1999.

88. Leadley, S. R.; Davies, M. C.; Domb, A.; Nudelman, R.; Paul, A. J.; Beamson, G., Analysis of the surface chemical structure of copolymers of poly(sebacic anhydride) with ricinoleic acid maleate using XPS and ToF-SIMS. *Macromolecules* 1998, *31* (25), 8957-8965.

89. Hiremath, J. G.; Devi, V. K.; Devi, K.; Domb, A. J., Biodegradable poly(sebacic acid-co-ricinoleic-ester anhydride) tamoxifen citrate implants: Preparation and in vitro characterization. *Journal of Applied Polymer Science* 2008, *107* (5), 2745-2754.

90. Bodalo-Santoyo, A.; Bastida-Rodriguez, J.; Maximo-Martin, M. F.; Montiel-Morte, M. C.; Murcia-Almagro, M. D., Enzymatic biosynthesis of ricinoleic acid estolides. *Biochemical Engineering Journal* 2005, *26* (2-3), 155-158.

91. Bodalo, A.; Bastida, J.; Maximo, M. F.; Montiel, M. C.; Murcia, M. D.; Ortega, S., Influence of the operating conditions on lipase-catalysed synthesis of ricinoleic acid estolides in solvent-free systems. *Biochemical Engineering Journal* 2009, *44* (2-3), 214-219.

92. Gautrot, J. E.; Zhu, X. X., High molecular weight bile acid and ricinoleic acid-based copolyesters via entropy-driven ring-opening metathesis polymerisation. *Chemical Communications* 2008, (14), 1674-1676.

93. Slivniak, R.; Ezra, A.; Domb, A. J., Hydrolytic degradation and drug release of ricinoleic acid-lactic acid copolyesters. *Pharmaceutical Research* 2006, *23* (6), 1306-1312.

94. Slivniak, R.; Domb, A. J., Macrolactones and Polyesters from Ricinoleic Acid. *Biomacromolecules* 2005, *6* (3), 1679-1688.

95. Mazzeo, M. P. S., Antonio F. Azelaic and a long chain dibasic acid-based polyurethane elastomers and sulfur-cured products thereof. CA 987827, 1976.

96. Bastioli, C. M., Tiziana; Floridi, Giovanni; Scaffidi Lallaro, Andrea; Cella, Gian Domenico; Toisin, Maurizio Biodegradable aliphatic-aromatic polyesters mostly based on azelaic acid, their blends with other biodegradable polymers, and uses. WO 2006097355, 2006.

97. Uyama, H.; Wada, S.; Kobayashi, S., Synthesis of aliphatic polyester by insertion of glycols into polyanhydrides using lipase catalyst. *Chem Lett* 1999, (9), 893-894.