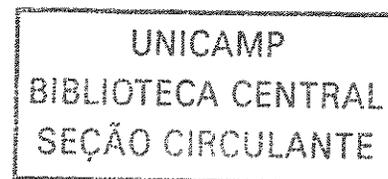


ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE A REDAÇÃO FINAL DA
TESE DEFENDIDA POR Adriana
Cristina Motta E APROVADA PELA
COMISSÃO JULGADORA EM _____

Elia
ORIENTADOR

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA

**Síntese e Caracterização do Poli(L-ácido
lático)- PLLA e Poli(L-ácido lático-co- ácido
glicólico)- PLGA e Estudo da degradação “*in
vitro*”**



Autor: Adriana Cristina Motta
Orientador: Eliana Aparecida de Rezende Duek

08/02

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**Síntese e Caracterização do Poli(L-ácido
lático)- PLLA e Poli(L-ácido lático- co- ácido
glicólico)- PLGA e Estudo da degradação “*in
vitro*”**

Autor: Adriana Cristina Motta

Orientador: Eliana Aparecida de Rezende Duek

Curso: Engenharia Mecânica

Área de Concentração: Materiais e Processos de Fabricação

Dissertação de mestrado acadêmico apresentada à comissão de Pós Graduação da Faculdade de Engenharia Mecânica, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica.

Campinas, 2002
S.P . – Brasil

UNIDADE	<u>Be</u>
Nº CHAMADA	<u>T/UNICAMP</u>
	<u>M858A</u>
V	EX
TOMBO BC/	<u>53205</u>
PROC.	<u>124103</u>
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	<u>R\$ 11,00</u>
DATA	<u>17/09/03</u>
Nº CPD	

CM00182165-5

BIB ID 287882

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

M858s Motta, Adriana Cristina
Síntese e caracterização do Poli(L-ácido láctico)-
PLLA e Poli(L-ácido láctico-co- ácido glicólico)- PLGA
e estudo da degradação "in vitro" / Adriana Cristina
Motta. --Campinas, SP: [s.n.], 2002.

Orientador: Eliana Aparecida de Rezende Duek.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica.

1. Materiais biomédicos. 2. Poliésteres - Síntese. 3.
Polímeros - Deterioração. I. Duek, Eliana Aparecida de
Rezende. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia Mecânica. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Síntese e Caracterização do Poli(L-ácido
lático)- PLLA e Poli(L-ácido lático- co- ácido
glicólico)- PLGA e Estudo da degradação “*in
vitro*”**

Autor: Adriana Cristina Motta
Orientador: Eliana Aparecida de Rezende Duek



Prof. Dr. Eliana Aparecida de Rezende Duek, Presidente.
Universidade Estadual de Campinas



Prof. Dr. Maria Isabel Felisberti
Universidade Estadual de Campinas-IQ



Prof. Dr. Cecília Amélia de Carvalho Zavaglia
Universidade Estadual de Campinas-FEM

Campinas, 23 de agosto de 2002.

*Dedico essa tese a minha amada filha Larissa,
ao meu marido Mário e a minha mãe Olímpia*

Agradecimentos

Antes de qualquer coisa, agradeço a Deus por tudo de bom que proporcionou a minha vida.

Agradeço a profa. Eliana Duek pela orientação durante o mestrado, e pela amizade conquistada. Suas determinações profissionais são exemplos que pretendo seguir na minha vida.

Ao meu marido Mário pelo apoio durante o desenvolvimento de meu trabalho.

A minha querida mãe, Olímpia Meroti Motta, por toda a dedicação e carinho que sempre demonstrou em todos os momentos de minha vida. E especialmente por ter cuidado da minha amada filha, Larissa, durante grande parte do desenvolvimento do meu mestrado.

A minha amiga Vanessa, pela ajuda prestada, pelas conversas...

A Claudinete pelas análises de MEV e TGA, e a Denise pela ajuda prestada.

Aos amigos do Depto. De Engenharia de Materiais: Betina, Raul, Alberto, Carla, Júnia, Sérgio, Luís, Juan, Emília e Camila.

A Daniela, uma amiga sempre presente na minha vida.

À profa. Cecília pelas oportunidades.

À FAPESP pelo suporte financeiro, possibilitando a execução do trabalho.

Resumo

MOTTA, Adriana Cristina, *Síntese e caracterização de PLLA e PLGA e estudo da degradação “in vitro”*. Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2002, 87 p., Dissertação (Mestrado).

O estudo e aplicação de poliésteres bioareabsorvíveis para reparar tecidos danificados tem se mostrado uma área de pesquisa muito promissora. Poli(L-ácido láctico), PLLA, e Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico), PLGA, se destacam dentre os poliésteres bioareabsorvíveis, em função da excelente biocompatibilidade e propriedades mecânicas. Os objetivos deste trabalho foram sintetizar e caracterizar o PLLA e o PLGA e estudar a degradação *in vitro* de membranas preparadas a partir desses polímeros. Os polímeros foram sintetizados através da abertura dos dímeros cíclicos do ácido láctico, lactide, e do ácido glicólido, glicolide, utilizando-se como catalisador o Sn(Oct)₂. Os polímeros PLLA e o PLGA apresentaram altos valores de massa molar (M_w em torno de 10⁵ g/mol) e suas estruturas químicas foram confirmadas através de RMN de ¹H e C ¹³ e IV. As propriedades térmicas do PLLA e PLGA foram estudadas por DSC e TGA, sendo verificada uma alta cristalinidade para o homopolímero e uma baixa cristalinidade para o copolímero. O estudo da degradação “in vitro” de suas membranas confirmou a mais rápida degradação do PLGA comparado ao PLLA. Este estudo mostrou que o custo para as sínteses de PLLA e PLGA pode ser reduzido de 4-5 vezes comparado aos polímeros importados.

Palavras Chaves: Síntese, PLLA, PLGA, degradação in vitro.

Abstract

MOTTA, Adriana Cristina, Synthesis and characterization of PLLA and PLGA and *in vitro* degradation study, Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2002, 87 p., Dissertation (Master ' degree).

The study and application of bioreabsorbable polyesters to repair damaged tissue is a very promising research area. Poly (L-lactic acid), PLLA, and Poly (lactic acid-co-glicolic acid), PLGA, are the most important bioreabsorbable polyesters due to their excellent biocompatibility and mechanical properties. In this work PLLA and PLGA were synthesized and characterized, and *in vitro* degradation of membranes was evaluated. The polymers were synthesized by ring opening of the cyclic diester of lactic acid, lactide, and glicolic acid, glicolide using Sn(Oct)₂ catalyst. PLLA and PLGA polymers presented high values of molar mass (Mw around 10⁵ g/mol) and their chemical structures were confirmed by ¹H and ¹³C NMR and IV. PLLA and PLGA thermal properties were studied by DSC and TGA, being verified that the homopolymer has a high crystallinity and copolymer has a low crystallinity. *In vitro* degradation study confirmed that the degradation process of PLGA membranes is faster than PLLA ones. This study showed that the synthesis of PLLA and PLGA costs can be decreased for 4-5 times compared to imported materials.

Key words: Synthesis, PLLA, PLGA, *in vitro* degradation

Sumário

Lista de Figuras	i
Lista de Tabelas	v
Nomenclatura	vii
Abreviações	vii
Introdução	1
Objetivos	2
Capítulo1 Revisão da Literatura	3
1.1 Polímeros como biomateriais	3
1.2 Poli (L-ácido láctico) ou Poli (L-lactide) ou PLLA	6
1.3 Nomenclatura	7
1.4 Produção do ácido láctico e do lactide	8
1.5 Polimerização de PLLA	10
1.6 Poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico) ou Poli (L-lactide-co-glicolide) ou PLGA	12
1.7 Degradação de PLLA e PLGA	15
Capítulo2 Materiais e Métodos	20
2.1 Síntese de PLLA	20

2.2	Síntese do copolímero PLGA	22
2.3	Caracterização do PLLA e PLGA	23
2.3.1	Cromatografia de permeação a gel (GPC)	23
2.3.2	Espectroscopia na região do infravermelho (IV)	24
2.3.3	Ressonância Magnética (RMN ^1H e C^{13})	24
2.3.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	24
2.3.5	Análise Termogravimétrica (TGA)	25
2.4	Estudo da degradação “in vitro” das membranas de PLLA e PLGA	25
2.4.1	Membrana de PLLA	26
2.4.2	Membrana de PLGA	26
2.5	Caracterização do processo de degradação de membranas: PLLA e PLGA	27
2.5.1	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	27
2.5.2	Análise Termogravimétrica (TGA)	27
2.5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	27
2.5.4	Perda de massa	28
Capítulo 3	Resultados e Discussões	29
3.1	Síntese do polímero PLLA	29
3.2	Síntese do copolímero PLGA	32
3.3	Caracterização do PLLA e PLGA	33
3.3.1	Cromatografia de permeação a gel (GPC)	33
3.3.2	Espectroscopia da região do infravermelho (IV) para PLLA	35
3.3.3	Espectroscopia da região do infravermelho (IV) para PLGA	36
3.3.4	RMN ^1H para PLLA	38
3.3.5	RMN ^1H para PLGA	39
3.3.6	RMN ^{13}C para PLLA	43
3.3.7	RMN ^{13}C para PLGA	44
3.3.8	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) para PLLA e PLGA	48
3.3.9	Análise termogravimétrica (TGA) para PLLA e PLGA	52
3.4	Estudo da degradação “in vitro” das membranas de PLLA e PLGA	55

3.4.1	Análise de DSC para membranas de PLLA	56
3.4.2	Análise de DSC para membranas de PLGA	60
3.4.3	Análise de TGA para membranas de PLLA	66
3.4.4	Análise de TGA para membranas de PLGA	68
3.4.5	Análise de MEV para membranas de PLLA	70
3.4.6	Análise de MEV para membranas de PLGA	72
3.4.7	Análise de perda de massa para membranas	74
Capítulo 4 Conclusões		76
4.1	Sugestões para próximos trabalhos	79
Capítulo 5 Referências Bibliográficas		80

Lista de Figuras

Figura 1- Estereoisômeros do ácido láctico e do lactide	8
Figura 2- Síntese de lactide (Bendix, 1998).	9
Figura 3- Síntese de poli (L-lactide) (Bendix, 1998).	11
Figura 4 -Representação da estrutura molecular do ácido láctico e do ácido glicólico	13
Figura 5 - Estrutura do copolímero Poli (L-lactide-co-glicolide), PLGA.	15
Figura 6- Rota metabólica de degradação do PLLA e PLGA.	16
Figura 7- Esquema da cuba utilizada na preparação de membranas	26
Figura. 8- Estruturas de ressonância do complexo lactona/ $\text{Sn}^+(\text{Oct})$.(Nijenhuis et al, 1992).	30
Figura 9- Mecanismo de reação da polimerização de lactonas pelo $\text{Sn}(\text{Oct})_2$.(Nijenhuis, 1992)	30
Figura 10- Mecanismo de reação da polimerização de lactide pelo $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (Bendix, 1988)	31
Figura 11- Síntese de poli(L-lactide-co-glicolide),PLGA	32
Figura 12- Curvas de distribuição de massa molar para: a) PLLA b) PLGA	34
Figura 13-Espectros na região do infravermelho do polímero PLLA	35

Figura 14-Espectro na região do infravermelho referente ao copolímero PLGA (Hummel,2001).	37
Figura 15- Espectro na região do infravermelho correspondente a 1º síntese do copolímero PLGA, na razão 80/20.	37
Figura 16- Espectro de ressonância magnética nuclear de próton (RMN ¹ H) correspondente a 1º síntese de PLLA (PLLA-1)	38
Figura 17-RMN ¹ H do PLGA na presença de três catalisadores diferentes (a) Sn(Oct) ₂ , (b) Zn(Acac) ₂ e (c) Al(Acac) ₃ (Kaspertczyk,1996).	40
Figura 18- Espectro de RMN ¹ H para o PLGA na razão 80/20, possuindo picos pouco intensos na região de 4,8 ppm.	42
Figura 19- Espectro de RMN ¹ H para o PLGA na razão 50/50, possuindo um pico intenso na região de 4,8 ppm. Referentes às unidades GG.	42
Figura 20- Espectro de RMN ¹³ C referente a 1º síntese do PLLA (PLLA-1)	43
Figura 21- Figura 21-RMN ¹³ C para PLGA na presença de três catalisadores diferentes (a) Al(acac) ₃ ; (b) Zn(acac) ₂ e (c) Sn(Oct) ₂ (Kaspertczyk,1996).	44
Figura 22- Espectro de RMN ¹³ C para PLGA sintetizado na presença (c) Sn(Oct) ₂ (Kaspertczyk,1996)	45
Figura 23- Espectro de RMN ¹³ C para PLGA, na razão 80/20 deste trabalho.	45
Figura 24 -Repetição do espectro de RMN ¹³ C para PLGA, na razão 80/20 deste trabalho.	46
Figura 25- Espectro de RMN ¹³ C para PLGA 50/50 deste trabalho	46

Figura 26-Termogramas obtidos por DSC referentes aos 1º e 2º aquecimentos das sínteses do PLLA	49
Figura 27- Curvas de DSC do 1º e 2º aquecimento do copolímero PLGA-3, na razão 80/20.	51
Figura 28- Curva de DSC do 1º aquecimento do PLGA-4, na razão 50/50.	52
Figura 29- Reação envolvida no processo de degradação do PLLA e PLGA	55
Figura 30- Estruturas dos monômeros formadores da cadeia de PLLA e PLGA.	55
Figura 31-Termograma de DSC do 1º aquecimento de membranas de PLLA-4 em função do tempo de degradação.	56
Figura 32- Termograma de DSC do 2º aquecimento de membranas de PLLA-4 em função do tempo de degradação	58
Figura 33-Termograma de DSC do 1º aquecimento de membranas de PLGA-1 em função do tempo de degradação.	60
Figura 34-.- Termograma de DSC do 1º aquecimento de membranas de PLGA-2 em função do tempo de degradação	61
Figura 35 - Termograma de DSC do 2º aquecimento de membranas de PLGA-1 em função do tempo de degradação	63
Figura 36- Termograma de DSC do 2º aquecimento de membranas de PLGA-2 em função do tempo de degradação	64
Figura 37- - Curvas Termogravimétricas de membranas de PLLA-4 em função do tempo de degradação	67
Figura 38- Curvas Termogravimétricas de membranas de PLGA-1 em função do tempo de degradação	68

Figura 39- Microscopia eletrônica de varredura de membrana de PLLA antes da degradação.	70
Figura 40- Microscopia eletrônica de varredura de superfície de fratura da membrana de PLLA antes da degradação	70
Figura 41- Microscopia eletrônica de varredura de superfície de membrana de PLLA após 90 dias de imersão em tampão fosfato	71
Figura 42 - Microscopia eletrônica de varredura de superfície de fratura de membrana de PLLA após 90 dias de imersão em tampão fosfato.	71
Figura 43 - Microscopia eletrônica de varredura de superfície de membrana de PLGA antes da degradação.	72
Figura 44- - Microscopia eletrônica de varredura de superfície de fratura da membrana de PLGA antes da degradação	72
Figura 45 - Microscopia eletrônica de varredura de superfície de membrana de PLGA após 60 dias de imersão em tampão fosfato.	73
Figura 46-Perda de massa durante a degradação de membranas de PLLA-4, PLGA-1 e PLGA-3	74

Lista de Tabelas

Tabela 1- Algumas características do homopolímero PLLA e do copolímero PLGA disponíveis no mercado. * é referente a razão entre as unidades do lactide/glicolide, nesta ordem.	19
Tabela 2- Dados das relações molares entre o monômero L-lactide e o catalisador Sn(Oct) ₂ usados nas sínteses em bulk do PLLA a 110°C por 24 horas.	21
Tabela 3 – Dados das relações molares usadas na polimerização do copolímero PLGA com Sn(Oct) ₂ em bulk a 110°C por 1 semana.	22
Tabela 4 – Massas molares(Mw e Mn) e índice de polidispersividade(IP) do PLLA e PLGA.	33
Tabela 5- Atribuições das bandas de absorção na região do infravermelho (Morrison & Boyde, 1976)	36
Tabela 6- Atribuições de seqüências aos picos obtidos. (Kasperczyk,1996)	41
Tabela 7- Análise da percentagem de unidades de glicolide para os copolímeros PLGA através das intensidades relativas de seus picos no espectro RMN ¹³ C	47

Tabela 8- Propriedades térmicas dos polímeros de PLLA e dos copolímeros de PLGA obtidas através de análise de DSC, onde Tg (temperatura de transição vítrea, obtida pelo 2º aquecimento); Tm (Temperatura de fusão); ΔH_m (Entalpia de fusão) e Xc (grau de cristalinidade).	48
Tabela 9- Temperatura de início de degradação, obtidas por TGA, para as diversas sínteses de PLLA e PLGA.	53
Tabela 10- Dados de Temperatura de fusão (Tm), Entalpia de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade para membranas de PLLA-4, em função do tempo de degradação obtidos do 1º aquecimento das curvas de DSC.	58
Tabela 11- Dados obtidos das curvas de DSC do 2º aquecimento de membranas de PLLA-4, em função do tempo de degradação, onde Tg (temperatura de transição vítrea); Tc (temperatura de cristalização); ΔH_c (entalpia de cristalização); Tm (temperatura de fusão) e ΔH_f (entalpia de fusão).	60
Tabela 12- Dados de temperatura de fusão (Tm), Entalpia de fusão (ΔH_f) para o PLGA-1 (Mw = 130000g/mol) e para o PLGA-2 (Mw = 283000 g/mol), obtidos através do 1º aquecimento das curvas de DSC.	63
Tabela 13- Dados obtidos das curvas de DSC do 2º aquecimento do PLGA-1 e PLGA-2, onde Tg (temperatura de transição vítrea); Tc (temperatura de cristalização); ΔH_c (entalpia de cristalização); Tm (temperatura de fusão) e ΔH_f (entalpia de fusão).	66
Tabela 14- Dados de temperatura de início de degradação e temperatura onde a perda de massa é máxima para membranas de PLLA-4, em função do tempo de degradação.	68
Tabela 15- Dados de temperatura de início de degradação e temperatura onde a perda de massa é máxima para membranas de PLGA, em função do tempo de degradação	70

Nomenclatura

IP-Índice de polidispersividade	
Mw –Massa molar média em massa	(g/mol)
Mn – Massa molar média em número	(g/mol)
n- número de mol	(mol)
Tg – Temperatura de transição vítrea	(°C)
Tc – Temperatura de cristalização	(°C)
Tm-Temperatura de fusão	(°C)
$\Delta H_{fusão}$ – Entalpia de fusão experimental	(J/g)
ΔH_{crista} - Entalpia de cristalização experimental	(J/g)
$\Delta H_{100\%}$ - Entalpia de fusão supondo o polímero (PLLA) 100% cristalino	
δ = Deslocamento químico	(ppm)

Abreviações

DSC – Calorimetria exploratória diferencial
FDA-Food and Drug Administration
MEV- Microscopia eletrônica de varredura
PLLA – Poli (L- ácido láctico) ou Poli (L-lactide)
PLGA – Poli (L- ácido láctico-co-ácido glicólico) ou Poli (L-lactide-co-glicolide)
TGA – Análise Termogravimétrica
Ti – Temperatura onde se inicia o estágio de perda de massa
Tmáx-Temperatura onde ocorre a máxima perda de massa
Xc – Grau de cristalinidade
Sn(Oct) ₂ - Octanoato de estanho (catalisador)

Introdução

Muitos tipos de dispositivos cirurgicamente implantáveis, que exercem função temporária no organismo, podem ser obtidos a partir de polímeros que são eliminados do corpo, através de uma degradação hidrolítica que gera produtos totalmente metabolizados no meio fisiológico. Uma grande vantagem desses polímeros que são empregados como materiais de bioresorção, é que antes de serem eliminados cumprem a proposta inicial de recuperação do tecido ou órgão. Apesar das primeiras aplicações de tais polímeros bioreabsorvíveis terem sido como materiais de suturas cirúrgicas, outras aplicações como implantes para fixação de fraturas e dispositivos de liberação controlada de drogas já fazem parte de procedimentos médicos.

Copolímeros e homopolímeros de lactide e glicolide formam uma importante classe de polímeros bioreabsorvíveis, em função de suas características tais como excelente biocompatibilidade e boas propriedades mecânicas. A rota de síntese que leva a formação de poli(L-ácido láctico), PLLA, e do seu copolímero poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico), PLGA, de alta massa molar é exclusivamente a que parte da abertura dos dímeros cíclicos do ácido láctico, que vem a ser o lactide, e do dímero cíclico do ácido glicólico, que vem a ser o glicolide.

O emprego destes materiais na área médica é bastante intenso, sendo o homopolímero PLLA mais voltado em aplicações na ortopedia como fixadores de fraturas, na forma de pinos e parafusos, e o PLGA tem seu uso mais voltado para suturas, liberação controlada de drogas, como, por exemplo, anestésicos, antibióticos e esteróides e também como fixadores de fratura na região craniomaxilofacial.

A primeira síntese do PLLA foi realizada em 1932, pelo pesquisador chamado Carothers, que obteve o material com baixa massa molar, e, portanto propriedades mecânicas ruins. Em 1954 a Dupont produziu o polímero com uma massa molar maior e o patenteou, todavia o inconveniente apresentado pelo PLLA era sua suscetibilidade à reação com a H₂O, o que fez o interesse pelo material diminuir. Somente em 1966 quando Kulkare demonstrou que a degradação do material poderia ocorrer “in vivo” foi que surgiu o grande interesse da área médica.

Já na década de 70 surgiu no mercado o 1º copolímero (Vicril®) constituído por unidades provenientes do ácido láctico e do ácido glicólico, PLGA. O grande interesse nesses copolímeros vem do fato de suas propriedades mecânicas e tempo de degradação poderem ser controlados através da relação que se emprega dos monômeros.

Por exemplo, o homopolímero PLLA apresenta uma elevada cristalinidade e a presença do monômero glicolide na cadeia do polímero faz com que ocorra um abaixamento significativo deste grau de cristalinidade, tornando até o material completamente amorfo como, por exemplo, na relação lactide/glicolide (50:50).

No trabalho em questão, foram obtidos PLLA e PLGA de alta massa molar ($M_w = 10^5$ g/mol) e o estudo “in vitro” das membranas de PLLA e PLGA demonstrou a degradação mais intensa do copolímero PLGA frente ao homopolímero PLLA, assim como descrito na literatura.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

1.1 POLÍMEROS COMO BIOMATERIAIS

Dispositivos implantáveis são cada vez mais empregados para restaurar funções do corpo perdidas devido à doença, acidente ou mesmo como uma consequência do desgaste natural (SCHALDACH, 2000).

O papel desempenhado dos dispositivos implantáveis na medicina moderna pode ser melhor ilustrado por algumas estatísticas. A cada ano são implantadas mais de 1.500.000 próteses vasculares, 100.000 próteses valvares cardíacas e cerca de 220.000 recebem um marcapasso cardíaco implantável. A demanda anual de dispositivos de diálise está ao redor de 1.000.000. Portanto, é evidente a importância dos materiais implantáveis na cirurgia reconstrutiva. As tarefas no desenvolvimento de elementos para reposição cirúrgica são a criação e o aperfeiçoamento de biomateriais e a construção de um dispositivo implantável de um modo compatível com o material disponível e a função desejada (SCHALDACH, 2000).

Até onde alcançam as considerações da engenharia, existe uma quantidade de materiais que pode ser utilizada para desenvolver e/ou fabricar um dispositivo implantável. Mas, os requisitos médicos são mais constringentes, porque o dispositivo implantável, enquanto restaura a função comprometida, deve também garantir que não exerça, a longo ou a médio prazo, qualquer

distúrbio ao corpo do paciente. Portanto, a escolha do material é crítica. Obter a biocompatibilidade representa uma tarefa interdisciplinar, que envolve pesquisadores de várias áreas como: médicos, pesquisadores e engenheiros (SCHALDACH, 2000).

Um material biocompatível pode ser definido como aquele que não determina uma resposta inflamatória aguda ou crônica no tecido e não provoca uma diferenciação apropriada dos tecidos circunjacentes ao implante (SCHALDACH, 2000). Interações entre o material e o tecido circunjacente também podem resultar em complicações envolvendo o próprio dispositivo implantável: infiltração de líquido, corrosão e abrasão mecânica, bem como reações a corpos estranhos, podem afetar as propriedades do implante.

Um outro fator que deve ser levado em conta é o limite de tolerância que o tecido apresenta no que se refere à remoção dos produtos de degradação, já que se for ultrapassado esse limite, pode ocorrer inflamações no tecido, diminuição do tempo de vida útil do dispositivo, reabsorção óssea ou mesmo necrose do tecido. Dentre os biomateriais, os mais usados são os metálicos, cerâmicos e poliméricos. Os dispositivos metálicos, que são mais rígidos do que o osso, são freqüentemente usados na fixação interna de fraturas. As vantagens deste tipo de implante são basicamente: um curto período de recuperação e exata reposição do osso fraturado (PISTNER et al, 1992).

Entretanto suas desvantagens são inúmeras: possível stress do osso e relativa osteoporose, devido à ausência de um funcionamento normal de carga no local do implante; reações alérgicas contra os diferentes componentes do metal (STEINHAUSER ,1968 a, STEINHAUSER ,1968 b; AKESON et al ,1975; BRADLEY et al , 1979); problemas de corrosão (COHEN & WULF, 1972; THULL & SCHALDACH, 1975; MEACHIM & WILLIAMS, 1981; MEACHIM & PEDLEY, 1981); sensibilização (BLACK,1986; WEILER et al, 1996), e em casos de dispositivos temporários existe, muitas vezes, a necessidade de uma segunda cirurgia para a remoção do implante, o que representa, sem dúvida, um incômodo ao paciente e encarecimento do seu tratamento.

Estes problemas expostos acima praticamente deixam de existir quando nos referimos aos implantes bioreabsorvíveis, que vem a ser implantes que cumprem somente uma função

temporária no corpo, sendo que depois do tecido ou órgão ter sido regenerado, eles degradam no ambiente em que se encontram na forma de compostos atóxicos, que por sua vez são eliminados pelo organismo através de uma absorção ou excreção.

Essa biodegradabilidade vem acompanhada de outras vantagens, como por exemplo, a transferência gradual de carga do implante para o osso em recuperação, o que não é possível no caso dos implantes metálicos, já neste tipo a transferência de carga é realizada pelo material metálico, o que pode acarretar uma re-fratura no mesmo local onde houve a remoção do material implantado (MIDDLETON & TIPTON, 2000).

Os polímeros bioreabsorvíveis podem ser naturais ou sintéticos, sendo que os sintéticos, em geral, oferecem maiores vantagens sobre os materiais naturais, já que podem ser elaborados de maneira a propiciar uma variedade muito grande em termos de propriedades, quando comparados aos de fontes naturais (BARROWS, 1986).

Os fatores que afetam o desempenho dos polímeros bioreabsorvíveis são aqueles já bem conhecidos no ambiente científico. São estes: seleção do monômero, seleção do iniciador, condições do processo e a presença de aditivos (MIDDLETON & TIPTON, 2000). Estes fatores, por sua vez, influenciam a hidrofiliabilidade do polímero, a cristalinidade, a temperatura de transição vítrea, a temperatura de fusão, massa molar, grupos finais, seqüência de distribuição (ao acaso X blocos) e a presença de resíduos de monômeros ou aditivos (ODIAN, 1981).

De maneira geral, o critério na seleção de um polímero para uso como biomaterial envolve dois fatores: as propriedades mecânicas e o tempo de degradação em função das necessidades da aplicação (MIDDLETON & TIPTON, 2000). Um polímero ideal para uso como biomaterial deve apresentar as seguintes características:

- Não provocar respostas tóxicas/inflamatórias no tecido no qual foi implantado;
- Ser metabolizado pelo organismo após ter cumprido sua proposta de recuperação, sem deixar traços;
- Ser facilmente processado na forma de um produto final;
- Ser facilmente esterelizável.

Dentre os polímeros bioreabsorvíveis o poli (ácido láctico) e o poli (ácido glicólico) estão entre os poucos usados clinicamente (DOMB et al, 1993; LEWIS, 1990). Este interesse por estes tipos de polímeros vem do fato deles já terem aprovação para um certo número de aplicações clínicas pelo U.S. Food and Drug Administration, órgão responsável pela liberação de alimentos e drogas nos EUA (ENINK,1987).

O campo de aplicações destes polímeros é vasto e já data de um período relativamente longo, sendo estes materiais empregados como dispositivos em: implantes (KULKARNI, 1966), materiais de suturas (CUTRIGHT et al, 1971), próteses, materiais de reparação ortopédica (LENSLAG et al, 1987; ROZEMA et al,1991), pinos intramedulares (MANMINEM et al,1992; ZISLIS et al, 1989 e IKADA, 1989), e em liberação controlada de drogas (DOMB et al 1994).

Além destas aplicações na área médica, poli (ácido láctico) também é de grande utilização como filmes degradáveis para embalagem de alimentos e plantas (OSTAPEHENKO,1990). Poliésteres alifáticos tais como poli (ácido láctico) e seus copolímeros com ácido glicólico têm recebido um interesse especial pelo fato de serem bioreabsorvíveis e também biocompatíveis com o ambiente fisiológico, já que eles degradam *in vivo* produzindo ácido láctico e ácido glicólico que são subseqüentemente eliminados como CO₂ e H₂O através do ciclo de Krebs. Os polímeros degradam através de uma simples hidrólise da ligação éster em um processo que é catalisado tanto por ácido como por base (SHICH et al, 1984) bem como por enzimas (SMITH et al, 1987).

1.2 POLI(L-ÁCIDO LÁCTICO) OU POLI(L-LACTIDE) OU PLLA

Os poli(lactides) podem ser considerados policondensados do ácido láctico e pertencem a classe dos α - hidróxi-ácidos. Os polímeros podem ser obtidos na forma semicristalina utilizando como monômero de partida o ácido láctico, ou ácido 2-hidroxi propanóico.

O ácido láctico é bifuncional, possui uma função álcool e também uma função ácido carboxílico e pode ser convertido em polímero por muitos caminhos. O mais simples deles é através de uma policondensação intermolecular, mas por este tipo de rota, se obtém material de

baixa massa molar. Para se obter mais alto grau de polimerização deve-se usar como monômero de partida o dímero cíclico do ácido láctico, denominado lactide.

Outra vantagem apresentada pelos Poli(lactides) é que os monômeros que são usados como partida para a sua produção (ácido láctico e lactide), são facilmente acessíveis quimicamente. Uma variedade de rotas químicas pode ser usadas para se obter ácido láctico e através de diferentes técnicas pode-se converter este em lactide com altos rendimentos.

O polímero poli (ácido láctico) pode ser copolimerizado com uma extensa variedade de comonômeros e como consequência dessas copolimerizações, obtém-se polímeros com diferentes propriedades mecânicas, morfológicas e físico-químicas. Como ocorre na maioria dos poliésteres alifáticos, as ligações ésteres na cadeia principal do polímero são hidroliticamente instáveis, fazendo com que o polímero apresente a característica da degradabilidade. Esta característica até recentemente não apresentava vantagens, já que buscava-se materiais que apresentassem propriedades estáveis. No entanto, no desenvolvimento de dispositivos médicos temporários, estes polímeros ganharam espaço.

1.3 NOMENCLATURA

Os dois monômeros que são geralmente usados como partida na síntese do poli(lactide), ácido láctico e lactide, apresentam quiralidade, sendo que o ácido láctico apresenta duas formas estereoisoméricas, o *L*- e o *D*- ácido láctico. Já o lactide, o diéster cíclico do ácido láctico, apresenta quatro isômeros diferentes: *L*- lactide, *D*- lactide, a mistura racêmica *D, L-lactide* e o *meso-lactide*, que é opticamente inativo e contém uma unidade *L* e uma unidade *D* no anel. Na literatura pouquíssimo é descrito sobre o *meso-lactide*, já que sua obtenção é muito difícil.

Segundo o Chemical Abstract a nomenclatura do lactide é: 3,6 dimethyl-1,4- dioxane,2-5,dione. Os prefixos para *L, D* ou *meso-lactide* são respectivamente: (3*S*-cis) ou (S-S); (3*R*-cis) ou (R, R) e trans. O nome do polímero pode ser baseado em sua origem, dessa forma quando se parte de um monômero de ácido láctico o polímero é denominado poli (ácido láctico), enquanto

que se o monômero de partida for o lactide, como é o que ocorre neste trabalho, o polímero obtido na síntese será chamado de poli(lactide).

É válido ressaltar que o poli (L-ácido láctico) e o poli (L-lactide) apresentam a mesma fórmula estrutural e estes dois nomes distintos se referem exclusivamente ao monômero de partida usado na síntese, e podem ser abreviado pela sigla PLLA.

A Figura 1 representa os estereoisômeros do ácido láctico e do lactide e o polímero poli (lactide):

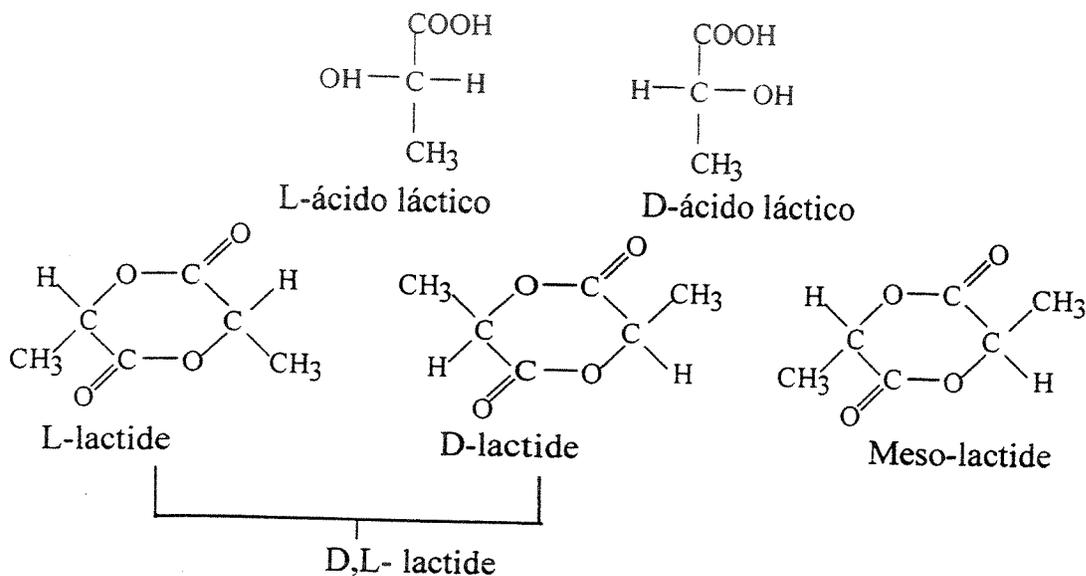


Figura 1-Estereoisômeros do ácido láctico e do lactide

1.4 PRODUÇÃO DO ÁCIDO LÁCTICO E DO LACTIDE

A descoberta do ácido láctico em termos químicos foi feita em 1780, por Carl Scheele, o que torna este composto uma das mais antigas substâncias orgânicas conhecidas. O ácido láctico pode ser obtido por rota química, mas isso ocorre em pequena escala, geralmente este composto é obtido através de rotas bioquímicas. Este composto forma a base de uma grande variedade de produtos que são empregados como aditivos alimentares, solventes em cosméticos e também na área médica. A rota bioquímica de produção do ácido láctico é realizada, geralmente, através da

fermentação microbiana de açúcares, tais como glicose e hexose. Dessa maneira se obtém, quase que exclusivamente o *L*-ácido láctico.

O lactide, como já mencionado anteriormente, é o dímero cíclico do ácido láctico que tem como característica possibilitar a produção do polímero de maior massa molar. A rota sintética principal para a fabricação do lactide foi descrita por Pelouze (1845). Neste procedimento, uma solução de ácido láctico é aquecida a altas temperaturas com eliminação de água e produção de lactide. O processo ocorre em duas etapas, sendo produzidas na 1ª delas oligômeros de poli (ácido láctico), e numa 2ª etapa a produção de lactide, através da despolimerização a altas temperaturas e pressão reduzida do poli (ácido láctico). A Figura 2 ilustra estas etapas:

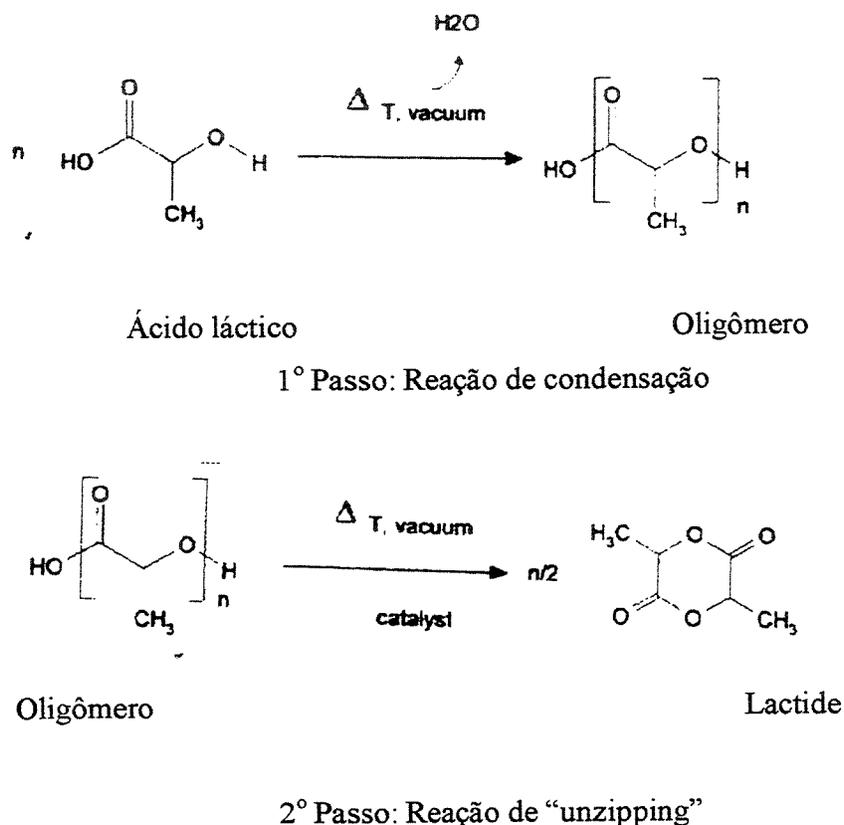


Figura 2 - Síntese de lactide (Bendix, 1998)

1.5 POLIMERIZAÇÃO DE PLLA

O poli (L-lactide), PLLA, é um polímero semicristalino com ponto de fusão ao redor de 180° C e uma cristalinidade por volta de 70%, tornando-o dentre os poli(lactides), o que possui a menor taxa de degradação. As propriedades mecânicas apresentadas por este polímero são muito boas, já que apresentam uma boa resistência à tração e um alto módulo de Young (VERT et al , 1995).

A polimerização do PLLA tem sido realizada por vários processos. A rota mais simples para a obtenção do polímero é através da policondensação do ácido láctico, entretanto, por esta rota obtém-se polímero com baixa massa molar (VERT et al, 1995). A rota que leva a obtenção de PLLA de alta massa molar, e que foi a seguida no trabalho em questão, é através da abertura do anel de monômeros cíclicos, sendo que, neste tipo de rota existe a necessidade da presença de um catalisador. Polimerizações por emulsão, solução e em bulk são descritas na literatura (NIJENHUIS, 1982).

Uma grande variedade de compostos, principalmente óxidos e sais metálicos, tem sido investigadas para serem empregadas como catalisadores. Entretanto para a produção de polímeros para uso biomédico, somente dois sais de estanho têm sido empregados: Cloreto de estanho II, e 2-etilhexanoate de estanho II, mais conhecido como Sn(Oct)₂

Ambos sais de estanho são aprovados para serem usados como aditivos alimentares, pelo FDA, mas o maior destaque vem sendo dado ao Sn(Oct)₂, devido a três fatores principais:

- O catalisador Sn(Oct)₂ é altamente eficiente e permite quase uma conversão completa da relação monômero/catalisador, podendo apresentar uma razão da ordem 10⁴:1 (NIJENHUIS & GRIJPMMA,1992).
- O risco de racemização é baixo quando se faz uso deste catalisador, sendo possível obter poli (lactide) com uma pureza óptica de até 99% , quando a síntese é realizada em temperaturas de até 150°C, por poucas horas (KRICHELDORF, et al,1995).

- Além destes fatores, o $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, como já mencionado anteriormente, é empregado como um aditivo alimentar, o que significa que sua toxicidade é extremamente baixa, quando comparado a outros sais de metal pesado (KRICHELDORF, et al, 1995).

A polimerização é uma reação de equilíbrio. O esquema é dado a seguir na Figura-3:

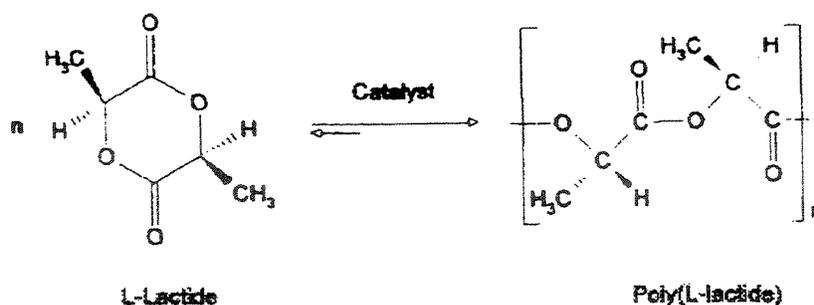


Figura 3- Síntese de poli (L-lactide) (BENDIX, 1998).

Dependendo das condições de reação, resíduos do monômero L-lactide podem ser encontrados em quantidades superiores a 15%. O monômero tem uma influência negativa sob a estabilidade global do polímero, já que pode ser facilmente hidrolisado a ácido láctico o que tem como consequência uma aceleração no processo de degradação da cadeia de poliéster.

Além disso, a presença do monômero L-lactide no polímero PLLA também conduz a uma intensa degradação durante o processamento térmico deste polímero, especialmente se este material não tiver sido eficientemente seco antes de ser processado. Além disso, para produtos químicos serem usados em aplicações médicas geralmente se requer um elevado grau de pureza, e a presença do próprio monômero que deu origem ao polímero pode ser considerada como impureza. Portanto, o monômero residual é frequentemente removido através de extrações com vários solventes, ou sistemas de solventes, ou ainda através de passos de dissolução e precipitação

1.6 POLI(L-ÁCIDO LÁCTICO-CO-ÁCIDO GLICÓLICO) OU POLI(L-LACTIDE - CO - GLICOLIDE) OU PLGA

O glicolide, um dos meros que compõem a cadeia do copolímero de PLGA é um dos monômeros mais importantes, em especial pelo fato da maioria das suturas comerciais existentes no mercado serem compostas de seu homopolímero poli (glicolide) abreviada como (PGA) (BENDIX, 1998). O PGA foi a primeira sutura bioreabsorvível totalmente sintética desenvolvida, sendo comercializada com o nome de DEXON[®] no ano de 1960 por Davis e Geck (KOHN, 1996 & SHALABY, 1994). O monômero glicólico é sintetizado a partir da dimerização do ácido glicólico, analogamente ao lactide, obtido através da dimerização do ácido láctico.

Como as fibras desses materiais exibem boas propriedades mecânicas, seu principal uso é como materiais de suporte. O que limita sua utilização em determinadas situações é o fato do PGA ter uma absorção muito rápida pelo organismo, já que em 2 semanas existe uma perda de aproximadamente 50% de sua resistência original, aumentando para 100% num período de 4 semanas, e totalmente reabsorvido num intervalo de 4-6 meses (SHALABY et al, 1994). Sua copolimerização com outros monômeros visa, entre outros fatores, diminuir a dureza de suas fibras e ajustar o seu tempo de degradação.

A copolimerização é um processo que resulta, portanto, numa grande versatilidade de propriedades e desempenho que se pode obter dos materiais. Copolímeros são polímeros que apresentam em sua estrutura dois ou mais tipos de meros. Para um copolímero a % dos componentes (comonômeros) bem como os tipos de distribuição dos meros nas macromoléculas são características muito importantes, as quais interferem nas propriedades. Essa diferenciação é ainda mais acentuada quando comparamos o copolímero PLGA com o homopolímero PLLA.

Enquanto que para PLLA o tempo de reabsorção do material pelo organismo pode levar mais de 36 meses, para o copolímero esse tempo pode ser reduzido para aproximadamente 6 meses, dependendo da proporção existente entre os meros. Essa capacidade de controlar o tempo de degradação no organismo é, sem dúvida, notável, o que justifica a grande quantidade de pesquisas que vem sendo feitas com esse material (PLGA).

Esta variação de tempo de degradação é um dos fatores que direcionam a aplicação do material, sendo o homopolímero PLLA mais indicado para fixação de fraturas, enquanto que o uso do PLGA é mais voltado como suporte para culturas de células, reparos da região craniomaxilofacial, âncoras para suturas e principalmente na liberação controlada de drogas (BARBER, 1998; PIETRZAK et al, 1997). A compreensão dessa variação de tempos de degradação pode ser facilmente entendida considerando-se que o mero originário de ácido láctico (lactide) é mais hidrofóbico do que o mero originário de ácido glicólico (glicolide), e, portanto copolímeros ricos em lactide serão menos hidrofílicos, absorverão menos H₂O e conseqüentemente degradarão mais lentamente (JAIN, 2000).

O fato das moléculas de H₂O penetrarem mais facilmente no ácido glicólico do que no ácido láctico pode ser entendido de uma maneira simples, já que num dos carbonos do ácido láctico possui um grupo metila (CH₃), enquanto o átomo de carbono correspondente na molécula de ácido glicólico possui um átomo de hidrogênio. O grupo metila do ácido láctico dificulta a hidrólise através do maior impedimento estérico que exerce para a entrada das moléculas de H₂O, enquanto que o hidrogênio não pode impedir que as moléculas de H₂O ataquem a cadeia polimérica. A Figura 4 ilustra as moléculas de ácido láctico e do ácido glicólico.

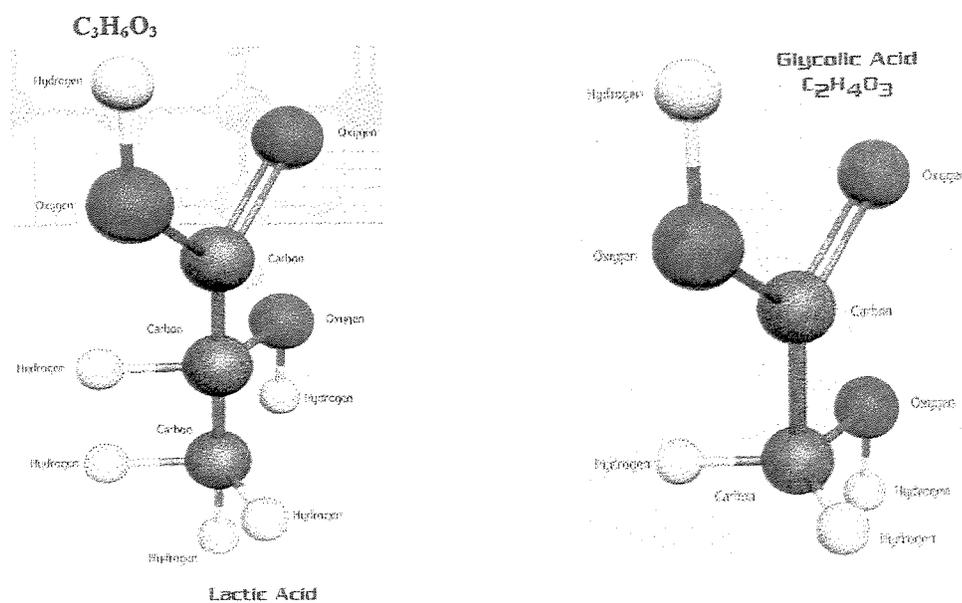


Figura 4- Representação da estrutura molecular do ácido láctico e do ácido glicólico

Portanto, as características do copolímero dependem da proporção dos monômeros presentes. No caso da cristalinidade, pode-se dizer que tanto os homopolímeros de L-lactide, como os de glicolide são semicristalinos, e quando um destes está presente numa composição polimérica maior de 70% em mol, o copolímero sintetizado exibirá alguma cristalinidade (GILDING & REED, 1988).

A cristalinidade do PLGA influencia diretamente nas propriedades mecânicas, molhabilidade e na taxa de bioreabsorção do material (WU, 1995). Os polímeros, PLLA e PLGA, ilustram a influência da cristalinidade no tempo de degradação. No caso do copolímero PLGA que possui uma proporção 50/50 (lactide e glicolide), verificou-se que a sua degradação é mais rápida, conseqüência desse polímero ser completamente amorfo (LEWIS, 1990; KITCHELL, 1985).

A literatura ainda relata que o grau de cristalinidade e o ponto de fusão dos polímeros estão diretamente relacionados com a massa molar que estes apresentam (WU,1995; LEWIS,1990). A Tg (temperatura de transição vítrea) do PLGA está acima da temperatura fisiológica (37°C), o que os tornam vítreos nas condições naturais (WU,1995; LEWIS,1990). Dessa forma, estes polímeros apresentam uma estrutura razoavelmente rígida, que fornece a eles uma significativa resistência mecânica, podendo ser usados como dispositivos de liberação de drogas. Jamshidi (1988) relatou que a Tg dos PLGAs diminuem com a diminuição da quantidade de lactide na composição do copolímero e com a diminuição da massa molar.

Os polímeros selecionados nas administrações de drogas devem preencher muitos requisitos como biocompatibilidade, compatibilidade com a droga, cinética de biodegradação adequada e propriedades mecânicas razoáveis, além de fácil processamento (WU, 1995; LEWIS, 1990). Entre os polímeros sintéticos que vem sendo estudados para esta finalidade, o PLGA tem gerado muito interesse, devido as suas excelentes biocompatibilidade e biodegradabilidade (JAIN, 2000).

Vários dispositivos poliméricos como micropartículas, pellets, implantes e filmes têm sido fabricados usando PLGA, na liberação de uma variedade de drogas. E como o PLGA já tem sua aprovação pelo FDA (Food Administration and Drug) (TICE, 1991) seu destaque é ainda maior frente a outros polímeros. A Figura 5 é referente à estrutura do copolímero

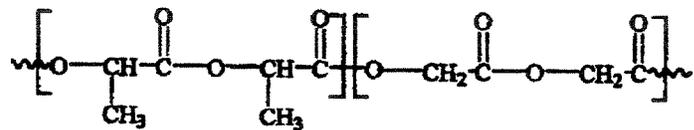


Figura 5- Estrutura do copolímero poli(lactide-co-glicolide), PLGA

1.7 DEGRADAÇÃO DE PLLA E PLGA

Já é sabido que uma vez implantados no corpo, dispositivos biodegradáveis devem manter suas propriedades mecânicas pelo tempo necessário, e só então, serem degradados, reabsorvidos e eliminados sem deixar traços. Tanto a degradação *in vivo* como a *in vitro* dos copolímeros de PLGA ocorre num ambiente aquoso através da quebra das ligações ésteres presentes na cadeia do polímero (JALIL, 1990). E como essas degradações *in vivo* e *in vitro* ocorrem praticamente numa mesma taxa, pode-se concluir que não existe uma contribuição significativa pelas enzimas no organismo no processo de degradação (CHA & PITT, 1990). O produto de degradação do PLLA é o ácido láctico e os do PLGA são além do ácido láctico, o ácido glicólico (COHEN et al, 1994). O ácido láctico entra no ciclo dos ácidos tricarbóxicos sendo metabolizado e posteriormente eliminado do organismo na forma de CO₂ e H₂O (LEWIS, 1990). O ácido glicólico ou é eliminado diretamente na urina ou entra no ciclo do ácido tricarbóxico sendo também excretado na forma de CO₂ e H₂O (WU, 1995).

A Figura 6 ilustra a rota metabólica da bioreabsorção do PLLA e PLGA

Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) gera: ácido láctico (seqüência Figura 6)
 ácido glicólico → eliminado na urina ou transformado em glicina → serina → piruvato, seguindo a seqüência abaixo:

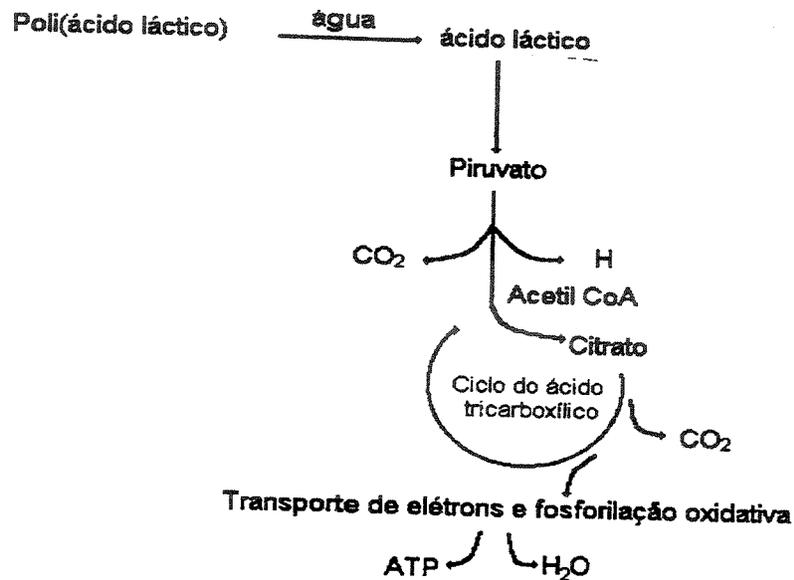


Figura 6- Rota metabólica de degradação do PLLA e PLGA

O processo de degradação para o PLGA foi proposto por Raghuvanshi (1993) e se baseia em três fases:

1. Processo de cisão das cadeias ao acaso: neste processo existe uma redução significativa da massa molar do polímero, mas sem ser verificado uma perda de massa significativa. Não existe ainda a formação de monômeros solúveis;

2. Na fase intermediária ocorre uma diminuição da massa molar acompanhada por uma rápida perda de massa e a formação de produtos oligoméricos solúveis.

3. Nesta fase os fragmentos oligoméricos são transformados nos seus respectivos monômeros. Ocorre aqui a completa solubilização do polímero.

O fato de ocorrer inicialmente uma perda da massa molar do polímero, seguido posteriormente pela perda de massa do polímero é um indicativo de que o tipo de degradação é a chamada *in bulk* (KOHN & LANGER, 1996). Este tipo de erosão ocorre quando a taxa em que a

água penetra o dispositivo excede aquela em que o polímero é convertido em materiais solúveis em água (resultando numa erosão através do dispositivo). Este mecanismo de degradação em estágios permitiu que pesquisadores relatassem que a taxa de degradação na superfície de dispositivos grandes de lactide-glicolide é menor do que a degradação interior destes dispositivos (THERIN et al, 1992).

Inicialmente, a degradação ocorre mais rapidamente na superfície dos implantes, devido a maior disponibilidade da água neste local. Os produtos de degradação da superfície são rapidamente dissolvidos ao redor do fluido e removidos do seio do polímero. Mas, no interior do dispositivo existe uma dificuldade na remoção desses produtos para longe do seio do polímero, resultando assim, num ambiente ácido no interior do implante. O ambiente ácido catalisa a degradação, promovendo assim, uma hidrólise mais acelerada das ligações ésteres no interior dos dispositivos (MIDDLETON, 2000).

Dentre os fatores que influenciam a taxa de degradação do PLGA está, portanto o pH que afeta as taxas de reações através da catálise. Após mudanças no pH, taxas de degradação de ésteres podem mudar em algumas ordens de magnitude devido a catálises (KIRBY, 1972). A hidrólise de ésteres pode ser catalisada por ácido ou base (SHICH et al, 1984). O efeito do pH na degradação de polímeros biodegradáveis tem sido cuidadosamente estudado. Para suturas de poli (lactide-co-glicolide) a diminuição da resistência mecânica está altamente associado ao pH, sendo que somente em pH neutro ocorre a permanência de níveis elevados de resistência da suturas, enquanto em pHs altos ou baixos a degradação se mostra muito mais intensa (CHU, 1982).

Outro fator que ainda não foi discutido, mas que tem influência na taxa de degradação do polímero, é o local onde será implantado o dispositivo. Dispositivos maiores implantados em áreas com poucas vascularizações podem degradar e diminuir a capacidade do corpo transportar para fora os subprodutos degradados (ATHANASIOU, 1998).

Por exemplo, se ao redor do tecido não for possível eliminar a grande quantidade de produtos ácidos originários de uma degradação muito rápida dos polímeros (Lactide e Glicolide), pode ser verificado o aparecimento de uma inflamação ou algum outro tipo de resposta tóxica no

local do implante (SUGANUMA et al, 1993). Todavia, essas complicações verificadas em alguns implantes desses polímeros em questão, aparecem, por exemplo, no caso dos implantes bioreabsorvíveis ortopédicos numa taxa menor do que 10 %, o que nos permite dizer que os resultados em humanos são na grande maioria favoráveis (ATHANASIOU, 1998).

Portanto, a taxa de degradação do polímero e a capacidade do local do implante em eliminar os produtos ácidos originários da degradação são de suma importância para se evitar algum tipo de reação inflamatória ou mesmo outro tipo de resposta tóxica por parte do tecido circunjacente ao implante (SUGANUMA, et al 1993).

De maneira resumida pode-se dizer que as taxas de biodegradação dos copolímeros de PLGA são dependentes de vários fatores como:

- Razão molar dos meros provenientes do lactide e glicolide na cadeia do polímero;
- Massa molar do polímero;
- Grau de cristalinidade do polímero;
- Local do implante

A Tabela 1 a seguir contempla alguns dos PLGAs comerciais e suas respectivas aplicações e uma comparação com o homopolímero PLLA:

Tabela1- Algumas características do homopolímero PLLA e do copolímero PLGA disponíveis no mercado. * é referente a razão entre as unidades do lactide/glicolide, nesta ordem.

Polímero	Propriedades mecânicas	Processo de degradação	Perda de massa e perda de propriedades mecânicas	Área de aplicação	Produtos aprovados para uso
PLLA	Boas	Erosão <i>in bulk</i>	9-15 meses	Ortopedia e cirurgia maxilofacial	Fixsorb sytem (parafusos), (Pinos) Neofix
PLGA82/18	Boas	Erosão <i>in bulk</i>	4-12 meses	Âncoras de suturas Pinos e placas para reparos craniomaxilofacial	Surgical Dynamics Biomet
PLGA 70/30	Boas	Erosão <i>in bulk</i>	2-12 meses	Muito usado em reconstrução na região crânio e maxilofacial	Lactorsorb®
PLGA50/50	Satisfatórias	Erosão <i>in bulk</i>	2 meses	Materiais de suturas	Purasorb®
PLGA 10/90*	Satisfatórias	Erosão <i>in bulk</i>	1-2meses	Suturas periodental	Vicryl suture Vicryl Mesh

CAPÍTULO 2

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentadas as metodologias de polimerização de PLLA e PLGA e suas técnicas de caracterização; a metodologia de obtenção de membranas do PLLA e PLGA e suas técnicas de caracterização para o acompanhamento da degradabilidade desses materiais.

2.1 SÍNTESE DE PLLA

A reação de polimerização do L-lactide foi conduzida em bulk, ou seja, na ausência de solvente. A massa de L-lactide usada nas polimerizações era adicionada a uma ampola de vidro contendo o catalisador $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (Sigma). A razão Monômero/ Catalisador foi em torno de 4400. Essa razão usada foi a que mais se aproximou do sugerido na literatura, a qual era da ordem de 5000 vezes. (HYON et al, 1997)

Essa mistura foi congelada em N_2 líquido, fazendo-se a seguir vácuo na ampola, a fim de que a reação se desse na ausência de O_2 . A ampola foi evacuada, selada e imersa em um banho de óleo à 130°C por 24 horas. Decorrido esse tempo, verificou-se que a aparência do polímero obtido era a de um sólido translúcido branco.

A seguir a ampola foi quebrada, e o polímero dissolvido em clorofórmio, CHCl_3 (Merck). O tempo para a completa dissolução do polímero ocorreres foi de 24 horas sob agitação. Logo após, o polímero foi precipitado em metanol, CH_3OH (Merck). A precipitação ocorreu através do gotejamento da solução (polímero + CHCl_3) no metanol, CH_3OH . O volume de solvente metanol utilizado foi em torno de 3 vezes o de clorofórmio.

O polímero foi precipitado ao redor de uma barra magnética, na forma de fibras. O processo de secagem do polímero se deu primeiramente num dessecador a vácuo e em seguida, numa estufa a vácuo (mantida a 60°C por 8 horas), para eliminação de qualquer resíduo de solvente ainda presente. Finalmente, o polímero pode ser pesado, calculado o rendimento da reação e caracterizado através de Espectroscopia na região do infravermelho (IV), Ressonância magnética (RMN ^1H e ^{13}C), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA). A Tabela 2 contempla as relações molares do monômero (L-lactide) e do catalisador $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ usadas nas sínteses, numeradas como 1,2,3 e 4:

Tabela 2- Dados das relações molares entre o monômero l-lactide e o catalisador $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ usados nas sínteses "in bulk" do PLLA a 110°C por 24 horas

Síntese	Número de mol de l-lactide n (mol)	Número de mol de $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ n (mol)	Razão molar Monôm/Catal.
PLLA-1	0,069	$1,6 \times 10^{-5}$	4375
PLLA-2	0,068	$1,6 \times 10^{-5}$	4278
PLLA-3	0,088	$1,9 \times 10^{-5}$	4503
PLLA-4	0,216	$3,8 \times 10^{-5}$	5587

2.2 SÍNTESE DO COPOLÍMERO PLGA

Copolímeros de L-lactide e glicolide (PLGA), foram preparados através da reação de polimerização *em bulk* (*sem adição de solvente*), por abertura de seus anéis. A proporção entre os monômeros lactide/glicolide escolhida para as sínteses numeradas como 1, 2 e 3 foi a de 80/20. Foi realizada também uma síntese na proporção 50/50, PLGA-4. O catalisador utilizado foi o mesmo descrito nas sínteses do PLLA, o $\text{Sn}(\text{Oct})_2$. As massas dos monômeros (lactide e glicolide) e do catalisador, foram adicionadas numa ampola de vidro. A Tabela-3 contempla as relações molares dos monômeros (L-lactide e glicolide) com o catalisador.

Essa mistura era congelada em N_2 líquido, fazendo-se a seguir vácuo na ampola, para se evitar a presença de oxigênio.

Tabela-3 Dados das relações molares usadas na polimerização do copolímero PLGA com $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ in bulk a 110°C por 1 semana.

Síntese	Número de mol de lactide n (mol)	Número de mol de glicolide n (mol)	Número de mol de $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ n (mol)	Razão Monômero/ Catalisador
PLGA-1 80/20	0,138	0,0346	$4,4 \times 10^{-5}$	3126
PLGA-2 80/20	0,138	0,035	$2,2 \times 10^{-5}$	6253
PLGA-3 80/20	0,347	0,087	$6,02 \times 10^{-5}$	5764
PLGA-4 50/50	0,140	0,14	$2,7 \times 10^{-5}$	5211

As massas dos monômeros (lactide e glicolide) e do catalisador, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, foram adicionadas numa ampola de vidro. Essa mistura foi congelada em N_2 líquido, fazendo-se a seguir vácuo na ampola, para se evitar a presença de oxigênio.

A ampola devidamente evacuada foi selada e imersa num banho de óleo a 110°C por 1 semana. Essas condições de temperatura e tempo foram seguidas da literatura (Grijpma et al,

1990). Decorrido esse tempo (1 semana), a ampola foi aberta e o polímero dissolvido em CHCl_3 (Merck).

A dissolução dos copolímeros é muito mais lenta do que para o homopolímero PLLA. No caso do PLGAs de proporção 80/20 esse tempo de dissolução foi de 24 horas sob agitação, já para o PLGA 50/50 não foi possível haver uma dissolução completa do material, pelo fato de existir uma quantidade maior de glicolide na proporção (Grijpma et al,1990), o que justifica uma menor conversão monômero/polímero neste caso. Os solventes que seriam indicados neste último caso seriam os altamente fluorados, como o hexafluorisopropanol, cujo custo inviabilizaria o projeto.

Logo após a dissolução, o polímero foi precipitado em CH_3OH (Merck). A precipitação ocorreu através do gotejamento da solução (polímero+ CHCl_3) no metanol, CH_3OH . Apesar de ter se formado um material fibroso, no caso do copolímero de PLGA, a aparência das fibras obtidas era gelatinosa.

Posteriormente a esse processo dissolução-precipitação do copolímero, o material foi submetido ao processo de secagem, sendo primeiramente deixado num dessecador a vácuo por 4 horas, e em seguida numa estufa a vácuo por 8 horas a temperatura de 60°C , para eliminação de qualquer resíduo de solvente ainda presente. Finalmente, o material obtido (PLGA) pode ser pesado, e em seguida calculado seu rendimento.

A seguir o copolímero foi caracterizado pelas técnicas dispostas a seguir

2.3 CARACTERIZAÇÃO DO PLLA E PLGA

2.3.1 Cromatografia de permeação a gel (GPC)

As massas molares médias em número(M_n), em massa(M_w) e o índice de polidispersão (IP) foram obtidos em um cromatógrafo líquido CLWA-1, utilizando-se colunas ultrastyrigel e detector de índice de refração Waters 410. Foram utilizados padrões de poliestireno para a

calibração e THF (tetrahidrofurano) como fase móvel. Os resultados obtidos representam a média de três replicatas.

2.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros de infravermelho foram obtidos na região de 4000 a 650 cm^{-1} , em amostras na forma de filmes sobre NaCl, em um espectrofotômetro BOMEN MB-Séries.

2.3.3 Ressonância magnética (RMN de H^1 e C^{13})

Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrofotômetro GEMINI 300BB operando a 75 MHz para RMN^{13}C e 300 MHz para RMN^1H . Foram utilizados tubos de vidro 5mm de diâmetro e clorofórmio deuterado como solvente.

2.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O aparelho usado na determinação das propriedades térmicas dos polímeros foi Ta modelo MDSC291. As amostras, aproximadamente 10 mg, foram aquecidas de 25 a 200°C a uma taxa de 10°C/min e logo após resfriadas na taxa de 30 °C/min até -50 °C , sendo a seguir aquecidas novamente até 200 °C , sob purga de N_2 .Essas etapas foram seguidas para todas as amostras.

A temperatura de transição vítrea (T_g) foi determinada no ponto médio da variação da capacidade calorífica, a temperatura de fusão (T_m) e a temperatura de cristalização (T_c) nos pontos correspondentes ao máximo dos picos endotérmico e exotérmico, respectivamente.

A entalpia de fusão (ΔH_m) e a entalpia de cristalização (ΔH_c) foram calculadas a partir da área de cada pico. Para o cálculo do grau de cristalinidade(χ) das amostras considerou-se a relação descrita por Cam et al (1995) :

$$\text{Grau de cristalinidade } \chi(\%) = \frac{\Delta H_{\text{fusão}}}{\Delta H_{100\%}} \times 100\% \quad \text{Equação-1}$$

Onde: $\Delta H_{\text{fusão}}$ = entalpia de fusão experimental (J/g)

$$\Delta H_{100\%} = 93,7 \text{ J.g}^{-1} (*)$$

(*) Entalpia de fusão supondo o polímero 100% cristalino. (ALI et al, 1993).

2.3.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

As curvas termogravimétricas foram obtidas com equipamento STA 409C-NETZSCH- Geratebau Gmbr Thermal Analysis. Amostras pesando aproximadamente 10 mg foram submetidas ao aquecimento na faixa de 25-400⁰C, a 10⁰C/min sob atmosfera de He. Através dessa técnica foi possível determinar a temperatura de início da degradação térmica e a temperatura de máxima degradação.

2.4 Estudo da degradação “in vitro” das membranas de PLLA e PLGA

Para a preparação das membranas foram utilizados os seguintes polímeros sintetizados no trabalho: Poli (L-ácido láctico) referente à síntese-4 e Poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico), referente à síntese-2 (80/20).

2.4.1 Membrana de PLLA

O PLLA-4 foi dissolvido em clorofórmio (CHCl_3) (MERK) na concentração 5%(m/v) na temperatura ambiente sob agitação. A solução foi vertida numa placa de vidro dentro de uma cuba previamente saturada com vapor do solvente, com conexão para uma corrente de ar. Após aproximadamente 24 horas a membrana era retirada da placa e colocada numa estufa a vácuo a 60°C por 8 horas, para eliminação completa do solvente. Após secagem as membranas foram armazenadas em dessecador sob vácuo. A Figura 7 a seguir trás uma ilustração da cuba utilizados na preparação das membranas:

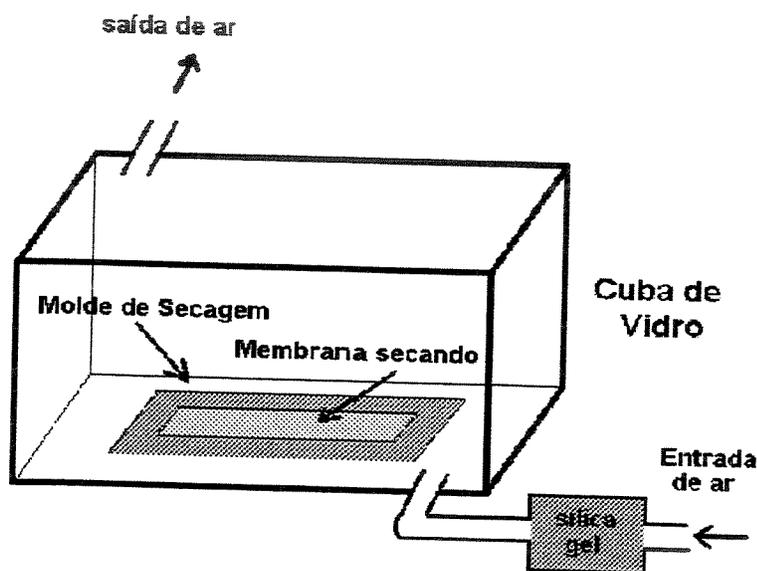


Figura 7 Esquema da cuba utilizada na preparação de membranas

A membrana obtida apresentou uma aparência opaca.

2.4.2 Membranas de PLGA

No caso do copolímero, o estudo da degradação foi acompanhado tanto pelo PLGA-1 80/20 ($M_w = 131000 \text{ g/mol}$) como pelo PLGA-2 80/20 ($M_w = 283500 \text{ g/mol}$). Tanto o PLGA-1 como o PLGA-2 foram dissolvidos, separadamente, em CHCl_3 na concentração 5 % (m/v). A

metodologia de preparação das membranas do copolímero foi a mesma descrita para o homopolímero (PLLA-4). A aparência das membranas de PLGA era de um material translúcido.

2.5 Caracterização do processo de degradação de membranas: PLLA e PLGA

Fragmentos das membranas preparadas (PLLA-4, PLGA-1 e PLGA-2) foram submetidos a uma caracterização inicial (tempo zero de estudo), sendo o restante de cada uma delas colocadas em tubos de vidro contendo solução tampão fosfato (pH = 7,4) num banho a 37 °C, simulando assim o ambiente fisiológico. Após períodos de 15, 30, 60, 90, e 120 dias, uma parte de cada membrana era retirada, lavada em água destilada, seca em estufa a vácuo a 60 °C por 8 horas e caracterizada pelas seguintes técnicas: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Análise Termogravimétrica (TGA) e Microscopia eletrônica de Varredura (MEV).

2.5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As condições de análise de DSC usadas nessas caracterizações de membranas foram às mesmas já descritas no item 2.3.4 empregadas na caracterização dos polímeros sintetizados.

2.5.2 Análise Termogravimétrica (TGA)

As condições de análise de TGA usadas nessas caracterizações de membranas foram às mesmas já descritas no item 2.3.5 empregadas na caracterização dos polímeros sintetizados.

2.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Foram feitas micrografias de superfície e de superfície de fratura, nos períodos determinados, para cada membrana preparada, utilizando-se microscópio eletrônico de varredura modelo JE OL JXA840A.

Para a análise da superfície da fratura as amostras, foram fraturadas em N₂ líquido. Todas as amostras foram recobertas com ouro-paládio com metalizador Sputh Coater BALTEC SCD 050 com corrente de 30 mA, durante 200 s.

2.5.1 Perda de massa

Para o estudo da perda de massa, membranas de (PLLA-4; PLGA-1 e PLGA-3) foram pesadas e a seguir colocadas em tubos de ensaio contendo solução tampão de fosfato (pH = 7,4) num banho a 37 °C e retiradas em tempos determinados. Após a retirada essas membranas eram lavadas em água destilada, secas em estufa a vácuo a 60 °C por 8 horas e pesadas.

CAPÍTULO 3

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1- Síntese do polímero PLLA

A rota escolhida para sintetizar o PLLA foi a da abertura do dímero cíclico do ácido láctico, o chamado lactide. Essa rota conduz a polímeros de alta massa molar, que possui propriedades mecânicas adequadas para ser usado como dispositivos na fixação de fraturas internas (LENSLAG,1987).

A temperatura na qual se dá a reação de síntese deve ser baixa e ficar na faixa de 120 a 210°C, já que temperaturas elevadas levam a um processo de despolimerização, o que reduz a massa molar do polímero (GUPTA et al, 1982; DUBBIS et al, 1991).

A concentração do catalisador é outro parâmetro de extrema importância para o sucesso da reação. Hyon et al (1997), estudaram a concentração ideal de catalisador na síntese de PLA e verificou que a porcentagem de catalisador deve estar na faixa de 0,05%, o que representa uma relação monômero/catalisador da ordem de 5000. No projeto em questão esta relação monômero/catalisador ficou na ordem de 4300 (Tabela 4).

Muitas publicações no sentido de elucidar o mecanismo de polimerização de lactonas, em especial lactide, usando compostos contendo Sn (II) e Sn (IV) estão disponíveis na literatura

(Kricheldorf et al, 1991; Kohn et al, 1984; Bassi et al, 1990). Entretanto, a natureza do mecanismo de ação do catalisador da maior parte dos compostos contendo Sn ainda é desconhecida. Nijenhuis et al (1992), propôs o seguinte mecanismo de polimerização para lactonas catalisadas com $\text{Sn}(\text{Oct})_2$. Inicialmente o catalisador, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, se coordena com o lactide através dos seus orbitais livres p ou d com $\text{C}=\text{O}$. Em decorrência da solvatação do catalisador ácido de Lewis, o complexo apresenta um caráter catiônico, como retratado nas estruturas de ressonância, Figura 8.

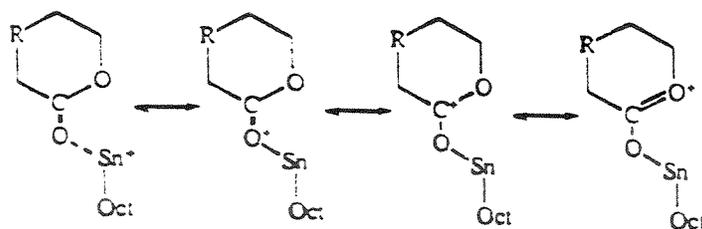


Figura 8- Estruturas de ressonância do complexo lactona/ $\text{Sn}^+(\text{Oct})$ (Nijenhuis et al, 1992).

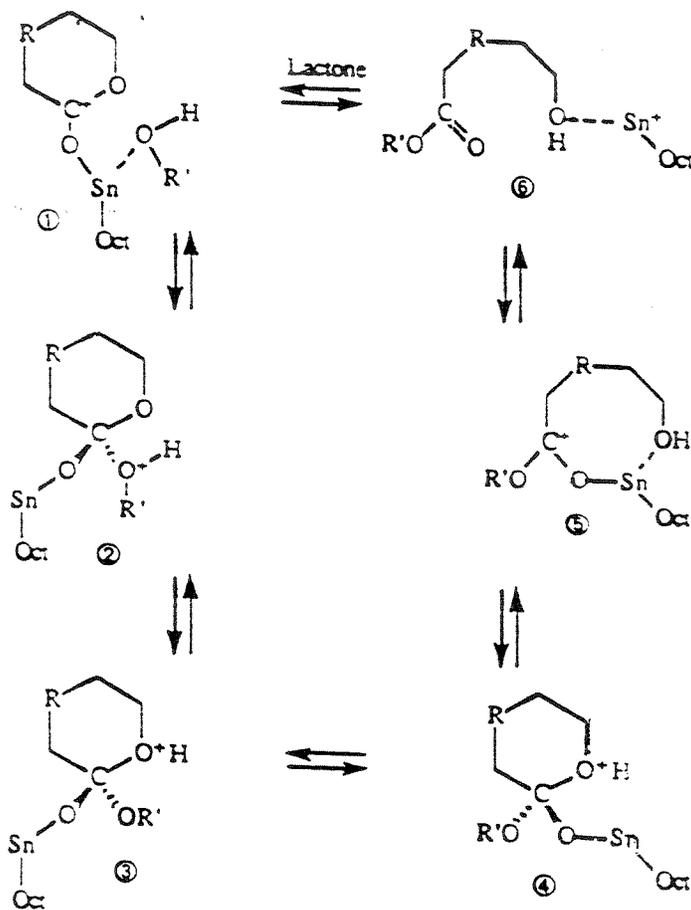


Figura- 9 Mecanismo de reação da polimerização de lactonas pelo $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (Nijenhuis, 1992).

Em decorrência da ressonância, a densidade eletrônica no carbono é diminuída, tornando-o susceptível ao ataque nucleofílico através dos compostos contendo OH, que podem ser provenientes do próprio catalisador que contém pequenas quantidades de H₂O, como resultado de seu método de obtenção. A polimerização se inicia quando o composto contendo OH reage com o complexo lactona/Sn⁺² (Oct), Figura 8, através de um ataque nucleofílico do carbono conforme pode ser visto nas Estruturas 1 e 2 da Figura 9. Após a coordenação obtém-se o complexo 6 da Figura 9, o qual poderá se coordenar com uma nova lactona gerando espécies do tipo estrutura 1, onde R', representa o crescimento da cadeia. No mecanismo proposto o catalisador não está ligado quimicamente ao final da cadeia, isto implica que uma molécula de catalisador pode "saltar" do fim de uma cadeia para outra e que o número de cadeias poliméricas capazes de serem polimerizadas pode ser maior do que o número de moléculas de catalisador.

Uma outra rota foi proposta por Bendix (1988) que diferente da rota proposta por Nijenhuis (1992), não representa a presença do grupo OH (resultado de impurezas do catalisador) na síntese. Nesta rota o catalisador abre o anel do lactide através da quebra da ligação acila do éster. Por este mecanismo os extremos da cadeia serão formados da seguinte forma: o início e o fim das cadeias terão terminação éster e ácido carboxílico, respectivamente.

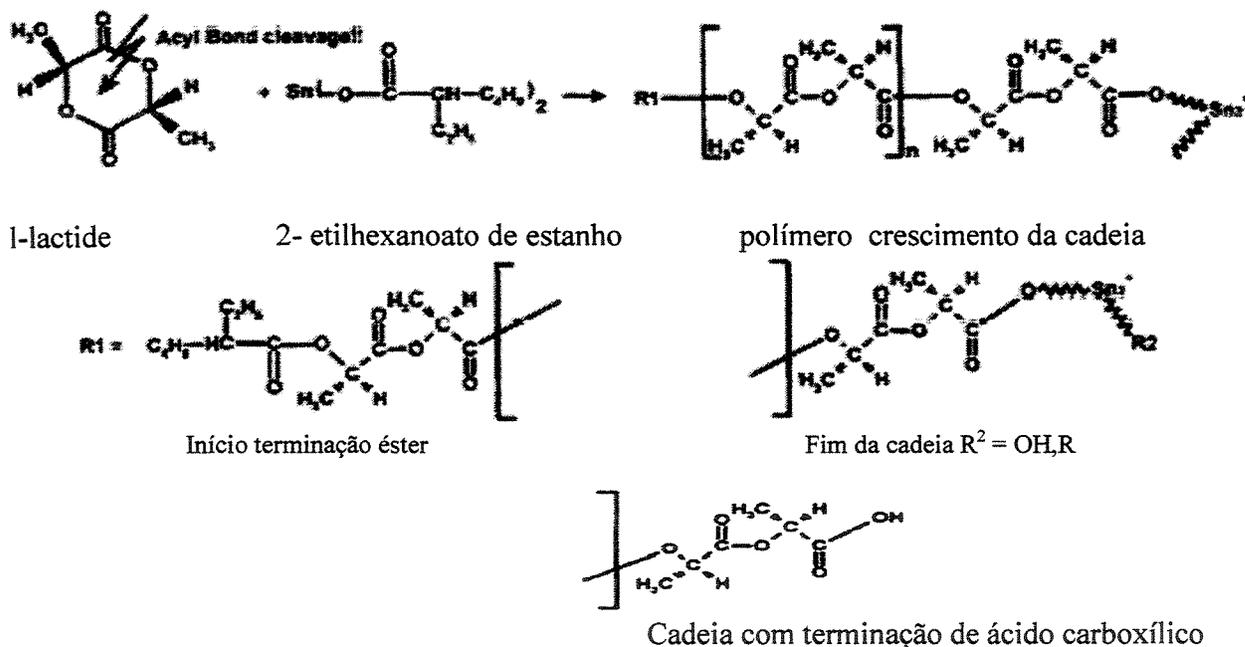


Figura 10-Mecanismo de reação da polimerização de lactide com Sn(Oct)₂ (Bendix, 1998).

3.2- SÍNTESE DO COPOLÍMERO PLGA

Da mesma forma que só é possível obter polímeros de PLLA de alta massa molar, através da abertura do dímero cíclico do ácido láctico, o chamado lactide, a obtenção do copolímero PLGA de alta massa molar só é possível através da abertura dos anéis do lactide e do glicolide (BENDIX, 1998 & MIDDLETON, 2000).

Assim como ocorre na síntese do homopolímero PLLA, a presença de um catalisador se faz necessária para a síntese do PLGA. O catalisador empregado é o mesmo utilizado na síntese do PLLA, que é o $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, que assim como relatado anteriormente, possui inúmeras vantagens sobre outros, como por exemplo o fato de ter aceitação pela FDA.

De acordo com Middleton & Tipton, 2000 a polimerização do PLGA é uma reação de equilíbrio. O esquema é dado a seguir na Figura 11

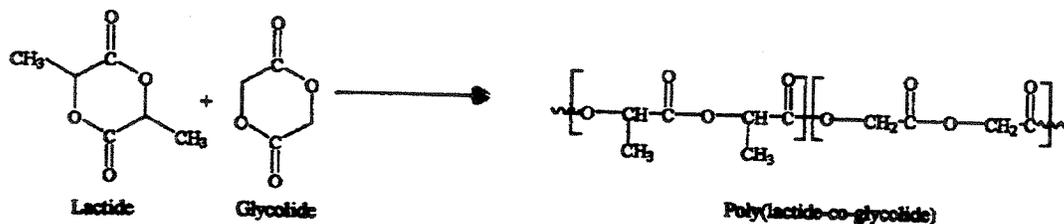


Figura 11-Síntese de poli(L-lactide-co-glicolide),(PLGA)

Novamente a polimerização neste caso, deve ser propiciada pela abertura dos anéis das lactonas (lactide e glicolide) através do catalisador $\text{Sn}(\text{Oct})_2$. Segundo Gilding et al(1979) , o glicolide tem uma reatividade maior do que o lactide , e sempre é encontrado no polímero final numa porcentagem maior do que aquela em que foi adicionado na mistura de monômeros antes da reação ter início. Técnica como RMN comprova essa maior reatividade por parte do glicolide durante a polimerização.

3.3- CARACTERIZAÇÃO DO PLLA E PLGA

A caracterização do polímero sintetizado foi realizada pela comparação dos resultados obtidos através das várias técnicas com os descritos na literatura.

3.3.1 Cromatografia de permeação a gel (GPC)

Através da cromatografia de permeação em gel foram obtidos resultados de massas molares média em número (Mn), massas molares em massa (Mw) e polidispersividade (IP). A Tabela 4 contempla esses resultados:

Tabela 4- Massas molares (Mw e Mn) e índice de polidispersividade (IP) do PLLA e PLGA

Síntese	% dos monômeros Lactide/Glicolide	Conversão (%)	Mw(g/mol)	Mn(g/mol)	IP Mw/Mn
PLLA-1	100/0	86,2	125400	80100	1,6
PLLA-2	100/0	93,0	132000	82400	1,6
PLLA-3	100/0	76,8	73100	52900	1,4
PLLA-4	100/0	89,4	151000	97100	1,6
PLLA(Purac)	100/0		100000		1,7
PLGA-1	80/20	80,4	131000	64400	2,0
PLGA-2	80/20	86,4	283500	164500	1,7
PLGA-3	80/20	87,9	95500	51500	1,9
PLGA(Sigma)	85/15		126000		
PLGA-4	50/50	55,5	-----	-----	-----

Os resultados estão de acordo com as altas massas molares que seriam esperados quando se parte do monômero lactide para a síntese do polímero de PLLA, bem como do lactide e glicolide para a síntese do copolímero PLGA. Por uma questão de comparação, podemos citar qual seria a massa molar esperada para o PLLA, se outra rota de síntese fosse adotada, como por exemplo, a da policondensação a partir do ácido láctico. Nesta rota de policondensação seria

esperado em torno de 30000 g/mol (Mw) (NIJENHUIS, 1995). Enquanto que na rota adotada no projeto em questão (abertura do anel de lactide), obteve-se polímeros com Mw > 100.000 g/mol.

Foi colocado o valor de massa molar, também por efeito de comparação, de um polímero comercial de PLLA considerado de alta massa molar obtido da PURAC e esse valor esteve na mesma ordem de grandeza (10^5 g/mol) dos obtidos no trabalho. O PLGA sintetizado no trabalho também se mostrou de alta massa molar, estando de acordo com o comercializado pela SIGMA. Esse parâmetro, como já mencionado anteriormente na parte da Introdução, é de grande importância na caracterização do material polimérico, já que características tais como, força de adesão, impacto, tensão, fragilidade, dureza e fusão serão governadas pela massa molar. Os cromatogramas com a distribuição das massas molares referentes às sínteses de PLLA e PLGA estão dispostos nas Figuras 12 a e 12 b, respectivamente.

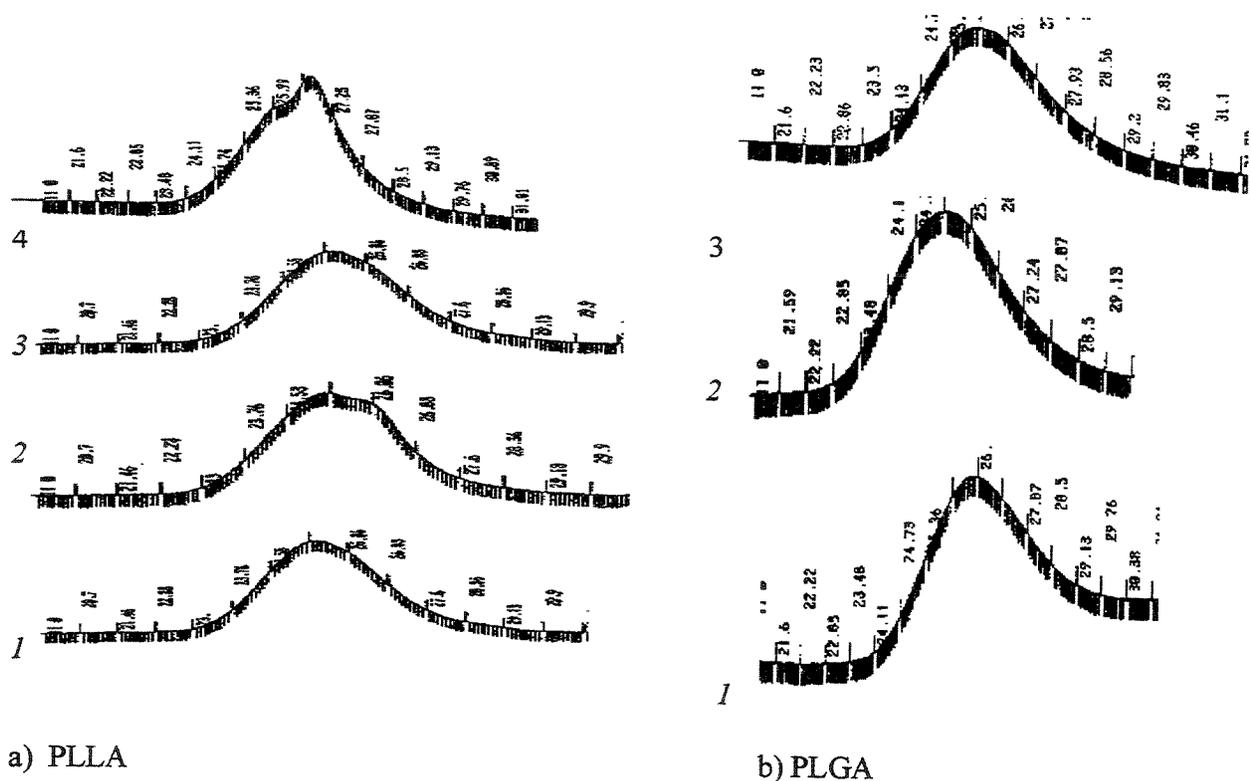


Figura 12- Curvas de distribuição de massa molar para: a) PLLA e b) PLGA, sendo que os números a esquerda das curvas representam as sínteses realizadas.

3.3.2 Espectroscopia da região do infravermelho (IV) para PLLA

Os polímeros sintetizados foram analisados estruturalmente através de espectroscopia na região do infravermelho. Os espectros na região de infravermelho dos polímeros são mostrados na Figura 13. Todos os polímeros apresentam as mesmas bandas de absorção que estão representados na Tabela 5 com suas respectivas atribuições.

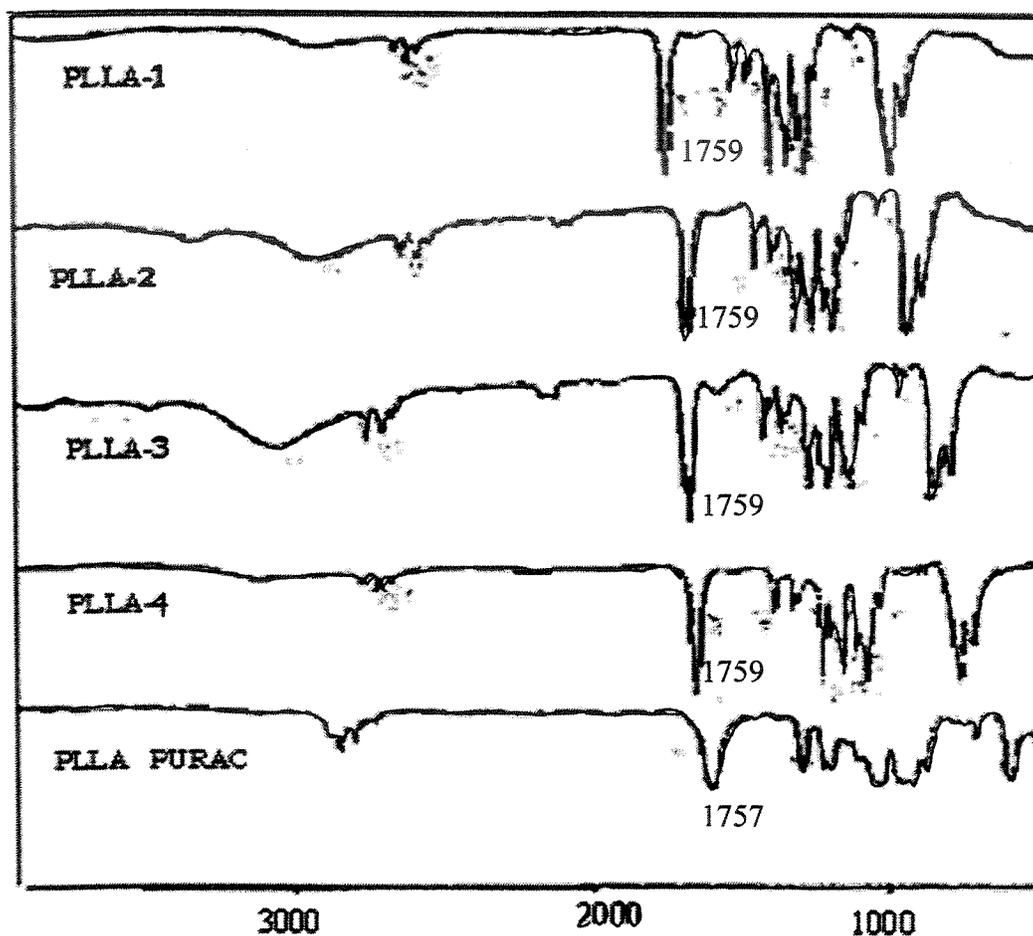


Figura 13 Espectros na região do infravermelho do polímero PLLA

Por efeito de comparação foi colocado o espectro de IV para o polímero comercial (Purac), sendo observado neste praticamente as mesmas bandas de absorção dos polímeros sintetizados.

Tabela 5 Atribuições das bandas de absorção na região do infravermelho (MORRISON & BOYDE, 1976).

<i>Banda de absorção (cm⁻¹)</i>	<i>Atribuição</i>
3500	ν OH (proveniente provavelmente de resíduo de CH ₃ OH usado na precipitação do polímero, ou umidade absorvida)
3000-2850	ν CH e CH ₃
1759	ν C=O do COO
1455	δ CH ₃
1383	δ CH e CH ₃
1266-1185	ν C-O do COO
1130	ν C-O do O-CH

Ao se comparar os espectros referentes às sínteses do PLLA, observa-se que a única diferença entre eles é a banda em torno de 3400 (referente à presença do grupo OH), cuja intensidade se mostra mais intensa no espectro referente ao PLLA-3, o que pode ser explicado pela presença de resíduo de solvente metanol usado durante o processo de precipitação do polímero ou mesmo absorção de H₂O desta amostra.

3.3.3 Espectroscopia da região do infravermelho (IV) para PLGA

Os espectros referentes ao copolímero (PLGA) diferem somente na intensidade de algumas bandas quando comparado ao do homopolímero (PLLA). A Figura 14 refere-se ao copolímero de PLGA obtido da literatura e através da qual é possível visualizar que as bandas que caracterizam o material estão presentes nos copolímeros sintetizados no projeto em questão (HUMMEL 2001).

Entretanto, a intensidade das bandas, principalmente na região entre 1000 e 1300 cm⁻¹, que aparecem no espectro da literatura, difere dos copolímeros sintetizados. Isso pode ser consequência do catalisador empregado na síntese daquele copolímero, que no caso foi SnCl₄,

3.3.4) RMN ^1H para PLLA

O espectro de RMN ^1H , Figura 16, mostra claramente o sinal referente ao grupo CH 5,15 ppm (a), e o sinal referente ao grupo CH $_3$ em 1,58 ppm, os quais estão de acordo com os reportados na literatura (KRICHELDORF & SUMBEL,1988). O pico a 7,3 ppm corresponde a impurezas do CHCl $_3$ do solvente CDCl $_3$.

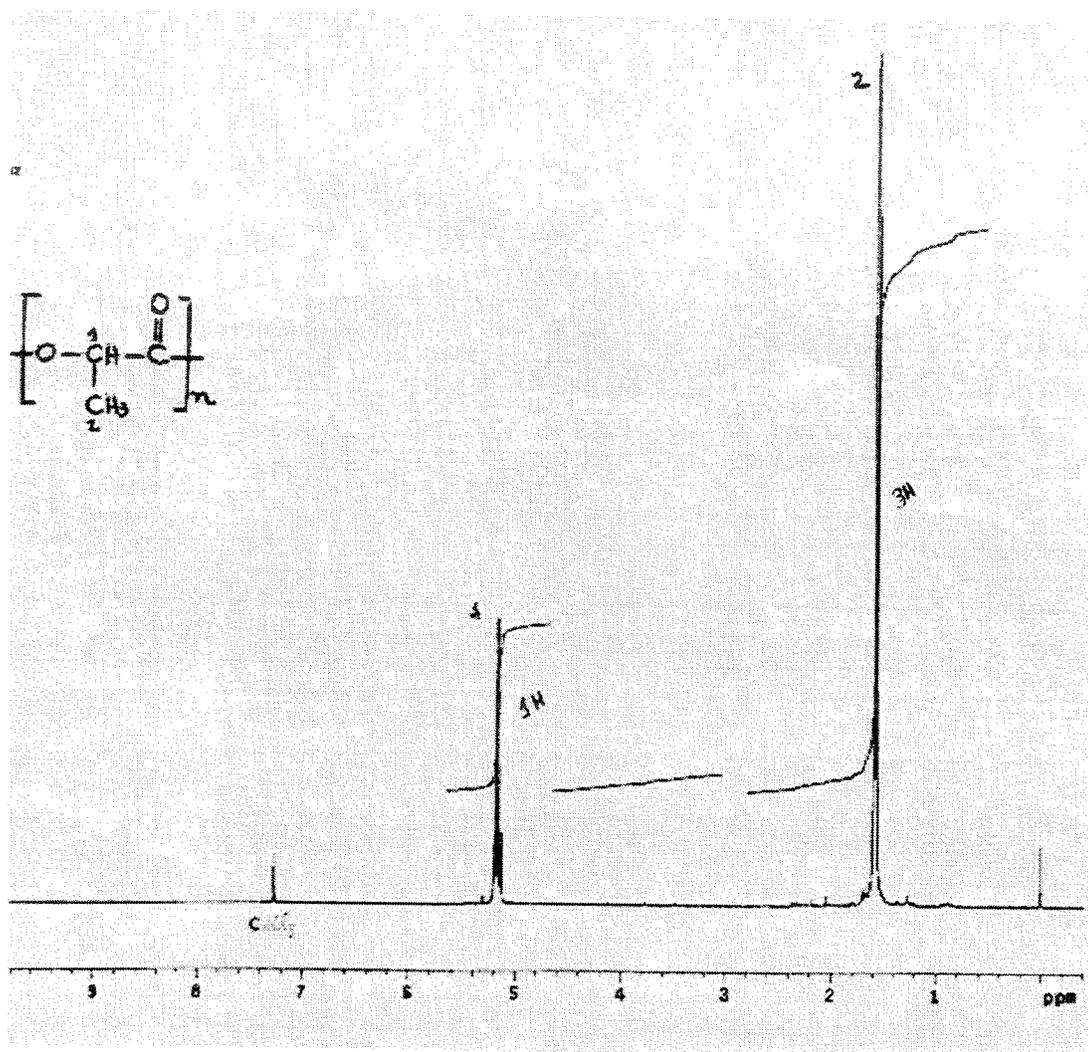


Figura16-Espectro de ressonância magnética nuclear de próton (RMN ^1H) correspondente ao PLLA-1.

3.3.5) RMN ^1H para PLGA

No caso do copolímero a análise do espectro foi baseada num artigo de Kaspertczyk de 1996. Segundo o autor, a região do espectro de RMN H^1 que resulta diferenças tanto em relação às proporções de unidades lactide/glicolide como em relação ao homopolímero PLLA é a região entre 4,74 a 5,1 ppm. De fato, para os copolímeros sintetizados essa foi a região de diferenciação entre as sínteses nas diferentes proporções (80/20 e 50/50) .

Para o autor, o tipo de catalisador empregado durante a síntese tem influência direta nas seqüências das unidades dos meros lactide/glicolide. É importante esclarecer que ao se fazer referência a estas unidades de meros no espectro, será denominada lactila a unidade proveniente do monômero lactide e glicolila a proveniente do monômero glicolide.

Por exemplo, o catalisador $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (o mesmo utilizado no projeto em questão) é conhecido por causar o processo de transesterificação durante a síntese do PLGA, ou seja, esse catalisador possibilita a redistribuição das seqüências dos meros (lactide/glicolide) ao longo da cadeia polimérica, resultando assim em mudanças nas estruturas das cadeias, portanto o autor verificou que quando se emprega este catalisador se verifica no espectro de RMN H^1 a seqüência LGL, referente as unidades lactila/glicolila/lactila .

A Figura 17 a seguir ilustra esse fato:

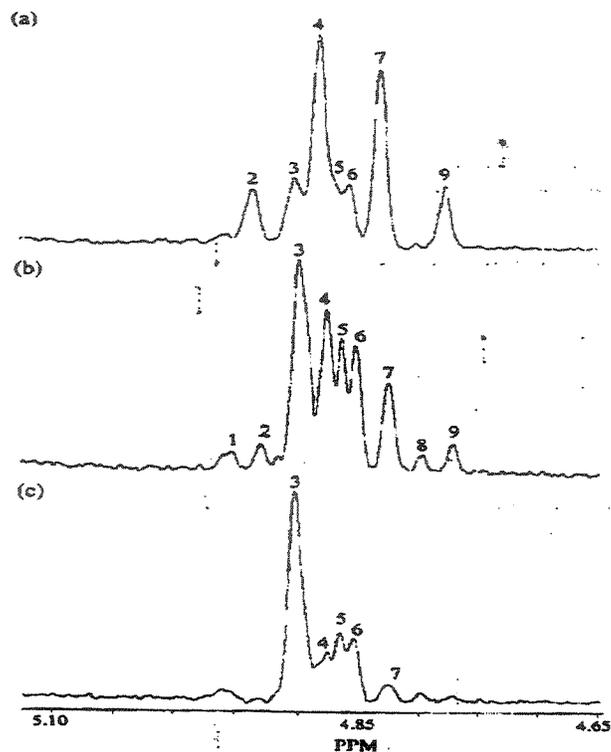


Figura 17-RMN H^1 do PLGA na presença de três catalisadores diferentes (a) $Sn(Oct)_2$, (b) $Zn(acac)_2$ e (c) $Al(acac)_3$ (Kasperczyk,1996)

Pela Figura 17, podemos verificar que o pico numerado pelo autor como 7 sofre uma discreta queda em sua intensidade conforme se passa de um espectro, onde o catalisado utilizado provoca o processo de transesterificação, espectro (a) $Sn(Oct)_2$, para um espectro onde o catalisador empregado não provoca esse processo, como o espectro (c) que fez uso do catalisador $Al(Aca)_3$.

Kasperczyk depois de diversas sínteses, do copolímero de PLGA em diversas proporções lactide/glicolide atribuiu cada pico a uma seqüência de unidades lactila/ glicolila. A Tabela 6, a seguir, foi proposta pelo autor.

Tabela-6. Atribuições de seqüências aos picos obtidos (KASPERCZYK, 1996).

Pico Número	Seqüências	δ (ppm)
1	GLGGG ou GGGLG	4,96
2	LGGLG ou GLGGL	4,94
3	GGGGG	4,90
4	LLGGL + LGLL	4,88
5	GGGGL + LGGGG	4,87
6	LLGGG + GGGLL	4,86
7	LLGLL + GLGLL + LLGLG+ GLGLG	4,83
8	GGGLG ou GLGGG	4,80
9	LGGGL + GLGGL ou LGGLG	4,78

Considerando o trabalho desenvolvido nesse projeto, torna-se difícil fazer essa atribuição de seqüências para todos os picos da região entre 5,10 e 4,65 ppm, pois nesse caso foi realizada somente uma variação de proporção dessas unidades (80/20 e 50/50).

A informação que se pode obter com certeza dessa variação de proporção 80/20 e para 50/50 é que o pico 4,83ppm se trata da seqüência GG (unidades glicolila/glicolila) que teve seu aumento nítido para o PLGA 50/50, o qual possui maior proporção dessa unidade. Para se obter, assim como o autor Kaspertczyk o fez a confirmação do processo de transesterificação seriam necessárias mais variações da razão entre os monômeros. As Figuras 18 e 19 facilitam a compreensão das informações relatadas acima.

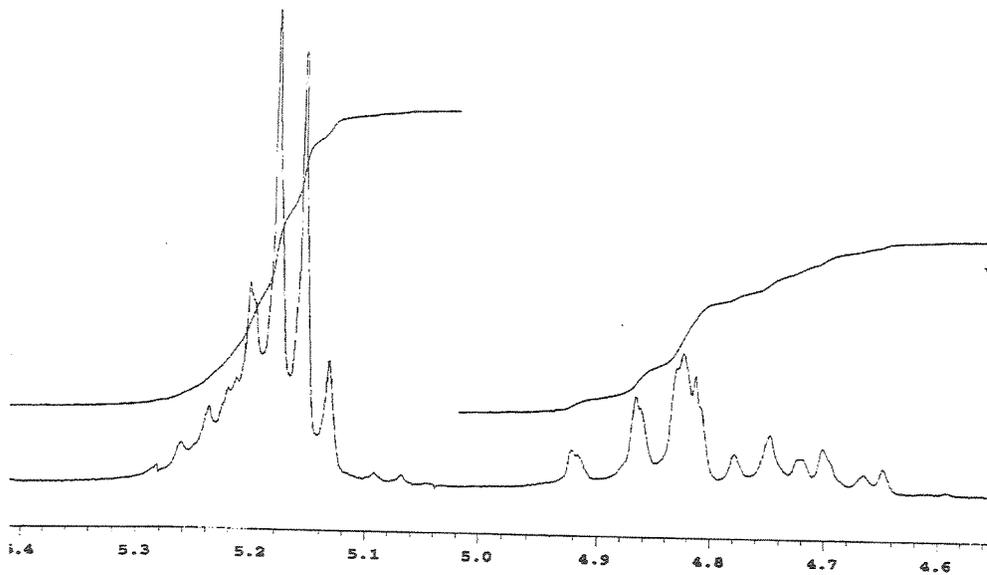


Figura 18-Espectro de RMN H^1 para o PLGA na razão 80/20, possuindo picos pouco intensos na região de 4,8 ppm.

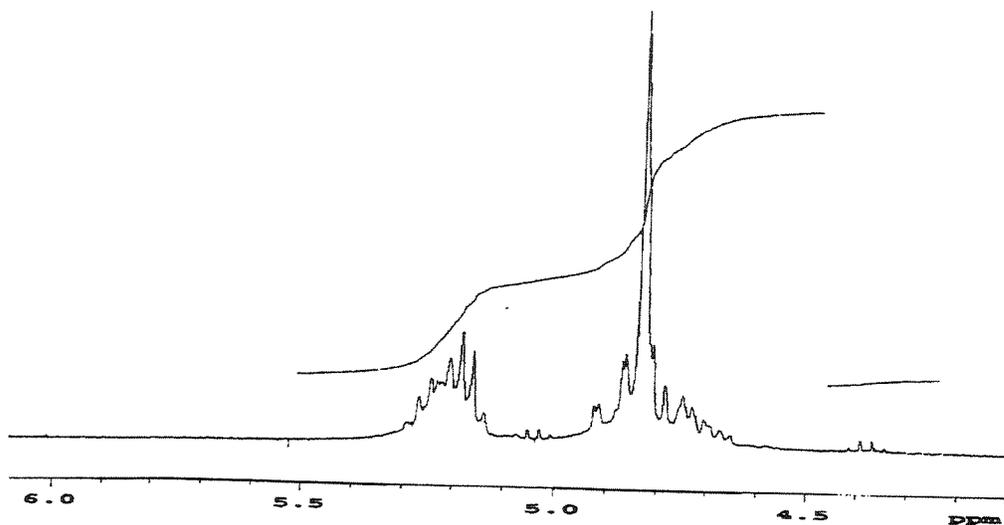


Figura 19-Espectro de RMN H^1 para o PLGA na razão 50/50, possuindo um pico intenso na região de 4,8 ppm referente às unidades GG.

3.3.6) RMN ^{13}C para PLLA

O espectro de RMN ^{13}C , Figura 20, mostrou 3 sinais que caracterizam o polímero PLLA: a 16,6 ppm, a 69 ppm e a 169,6 ppm referentes ao grupo CH_3 , ao grupo CH e ao $\text{C}=\text{O}$, respectivamente.

O sinal que aparece por volta de 76,5 ppm se refere ao solvente CDCl_3 . Todos estes resultados estão de acordo com a literatura (WOO et al, 1995; HILTUNEN et al, 1996).

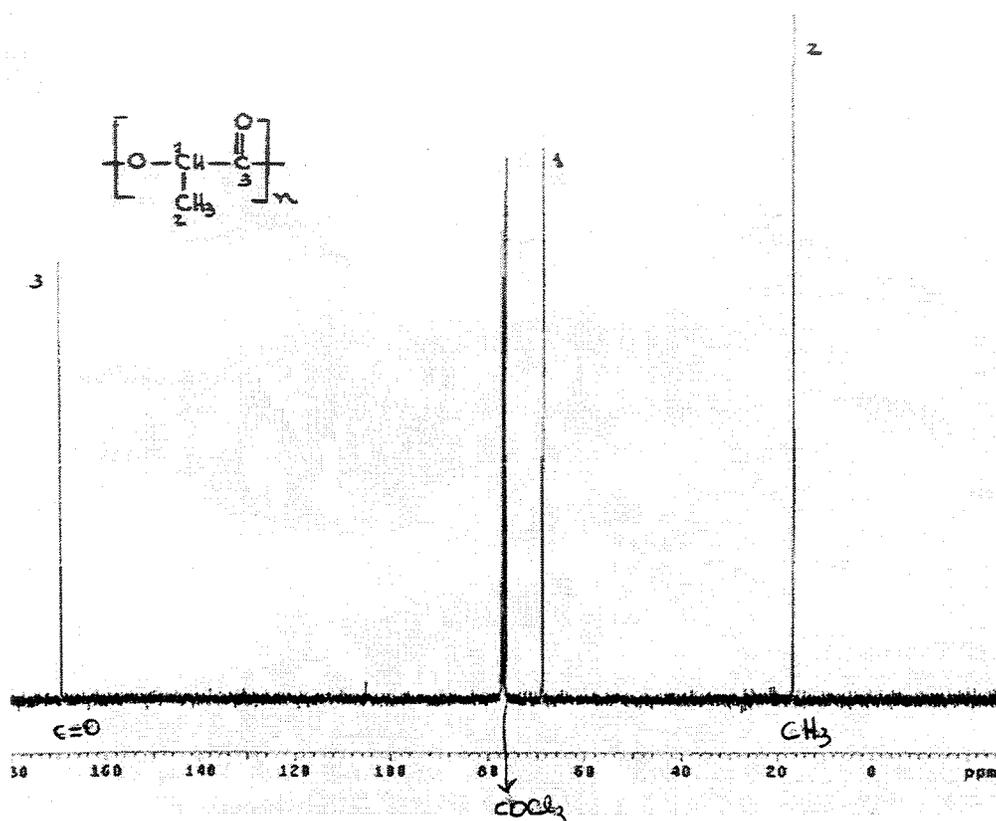


Figura 20- Espectro de RMN ^{13}C referente a 1^o síntese do PLLA (PLLA-1)

Os espectros referentes às demais sínteses do PLLA não foram mostrados, por apresentarem os mesmos picos com os mesmos deslocamentos químicos.

3.3.7) RMN ^{13}C para PLGA

A análise dos espectros do PLGA foi baseada em 2 artigos (Kasperczyk, 1996 & Grijpma *et al* 1990). Segundo Kasperczyk a região do espectro de RMN ^{13}C que diferencia tanto as proporções de unidades lactila/glicolila entre os copolímeros, como também entre o homopolímero é a região situada no intervalo 166-170 ppm, o que foi verificado também no projeto em questão.

Assim como foi verificado para os espectros de RMN ^1H dos copolímeros de PLGA, também foi observado por Kasperczyk, nos espectros de RMN ^{13}C , que o catalisador $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ provocou o processo de transesterificação das unidades lactila/glycolila evidenciado pelo surgimento do pico GLG(glycolila/lactila/glycolila) nos espectros, Figura21.

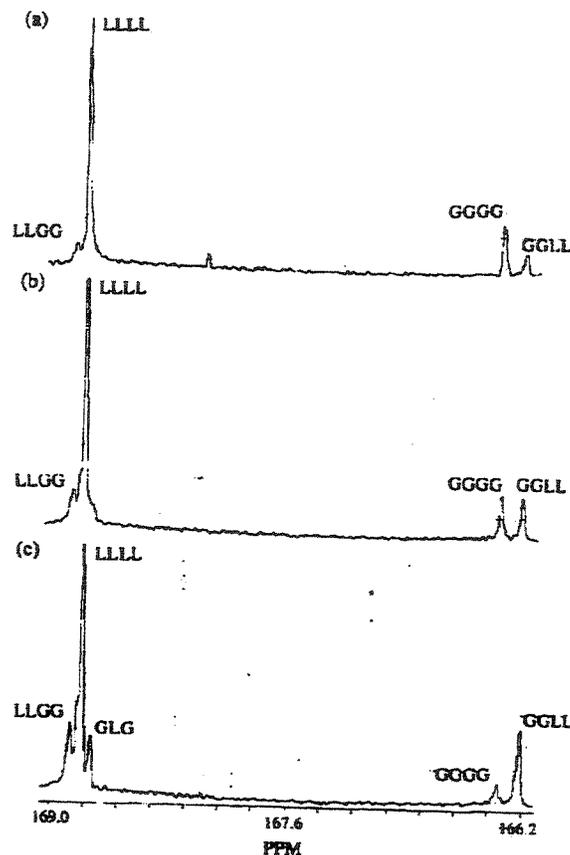


Figura 21-RMN ^{13}C para PLGA na presença de três catalisadores diferentes (a) $\text{Al}(\text{acac})_3$; (b) $\text{Zn}(\text{acac})_2$ e (c) $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (Kasperczyk,1996).

O espectro que deve ser tomado como base para a análise RMN ^{13}C deste trabalho é o (c) que apresenta o mesmo catalisador usado no projeto, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$. O item (c) da Figura 21 é rerepresentado abaixo (Figura 22), para uma comparação visual com o espectro do copolímero PLGA sintetizado nesse trabalho, Figura 23.

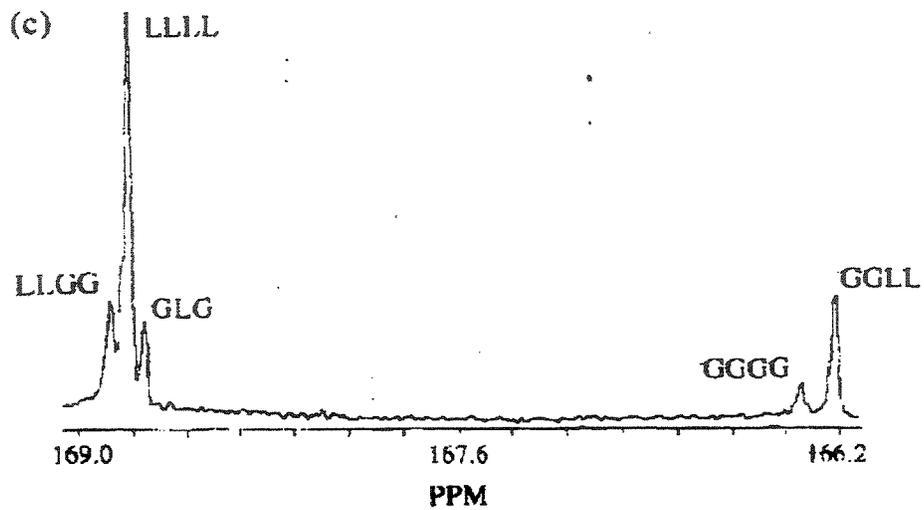


Figura 22- RMN ^{13}C para PLGA sintetizado com (c) $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (Kasperczyk, 1996).

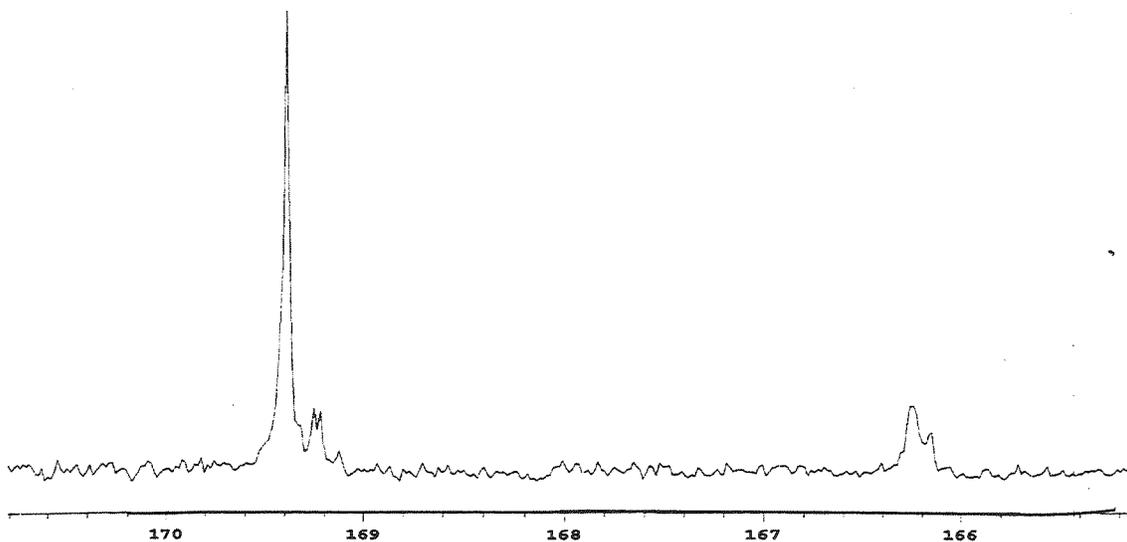


Figura 23- Espectro de RMN ^{13}C para PLGA, na razão 80/20 deste trabalho.

Pode-se verificar que os espectros se assemelham muito quanto à disposição dos picos (Figura 22 e Figura 23). Para ser possível fazer uma atribuição dos picos obtidos na Figura 23, com precisão, este espectro deve ser comparado com o espectro referente ao PLGA na proporção 50/50, Figura 25, já que dessa forma poderá ser verificado qual (ais) será(ão) o(s) pico(s) que tem relação com a unidade glicolila(G), tendo em vista que a intensidade relativa deste(s) aumentará quando comparada à proporção do PLGA 80/20(o qual possui menor quantidade desta unidade glycolyl em sua proporção).

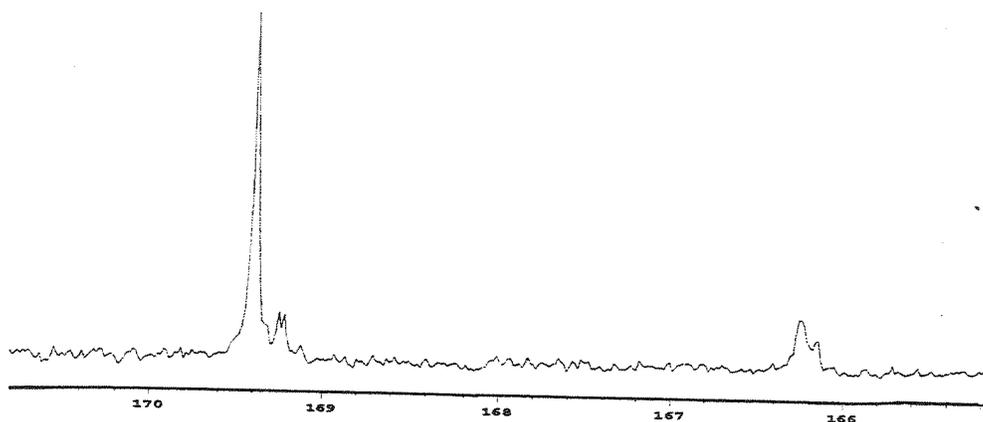


Figura 24- Repetição do espectro de RMN ¹³C para PLGA 80/20 deste trabalho.

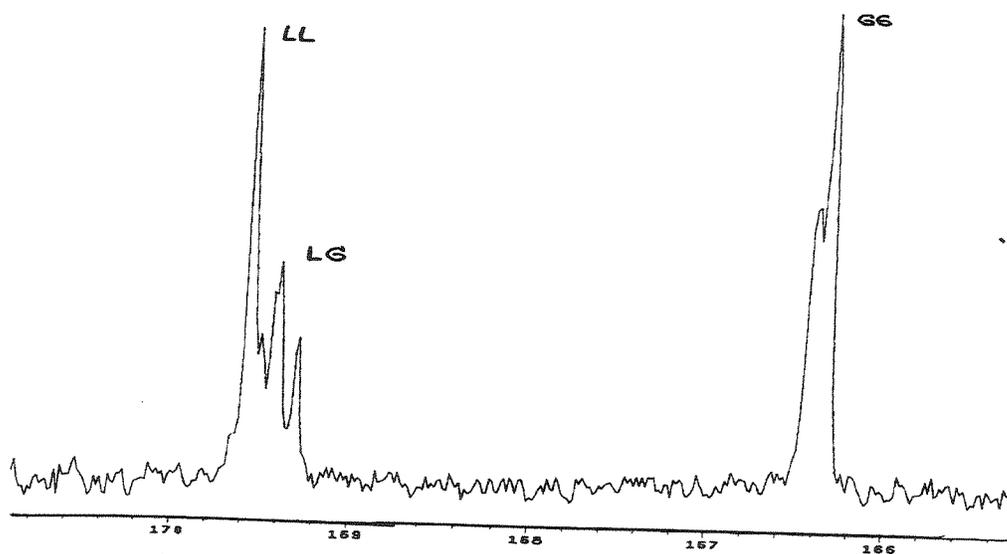


Figura 25- Espectro de RMN ¹³C para PLGA 50/50 deste trabalho.

Os picos da Figura 25 que sofreram um aumento de intensidade comparado àqueles referentes a Figura 18 estão, com certeza, relacionados às unidades glicolila(G) da cadeia polimérica. O artigo de Grijpma et al, 1990, propõe um cálculo que possibilita saber pelo espectro de RMN ¹³C, qual a real proporção existente entre as unidades dos meros (lactyl/glycolyl) no polímero. Este cálculo é baseado nas intensidades relativas dos picos referentes a seqüência LL (lactyl-lactyl); LG (lactyl-glycolyl) e GG(glycolyl-glycolyl) .

$$L_L = \frac{I_{LL}}{I_{LG}} + 1 \quad \text{e} \quad L_G = \frac{I_{GG}}{I_{LG}} + 1$$

Onde: I_{LL} = Intensidade do pico referente a seqüência LL

I_{LG} = Intensidade do pico referente à seqüência LG

I_{GG} = Intensidade do pico referente a seqüência GG

I_{LG} = Intensidade do pico referente à seqüência LG

A Tabela-7, a seguir, relaciona estes valores para as sínteses nas duas diferentes proporções (80/20 e 50/50):

Tabela 7. Análise da percentagem de unidades glicolide para os copolímeros de PLGA, através das intensidades relativas de seus picos no espectro RMN¹³C.

% de glycolide na mistura polimérica (antes da síntese)	L_L	L_G	$L_G / (L_G + L_L)$ (%)	% de glicolila esperado no polímero**
PLGA 80/20-2 20% de glycolide	8,8	2,1	19,2	20
PLGA 50/50 50% de glycolide	3,0	3,1	51,1	50

** com base na quantidade de monômero de glycolide adicionada para a síntese

As percentagens obtidas pelos cálculos das intensidades relativas do espectro de RMN ¹³C estão completamente de acordo com as percentagens de partida do monômero glycolide nas sínteses (PLGA 80/20 e PLGA 50/50).

3.3.8 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) para PLLA e PLGA

Através da análise por DSC determinaram-se as transições térmicas para os polímeros sintetizados. Estão dispostas na Figura 26, as curvas de DSC dos 1º e 2º aquecimentos dos homopolímeros sintetizados (PLLA) e nas Figuras 27 e 28, respectivamente, as curvas de DSC dos 1º e 2º aquecimentos do copolímero sintetizado (PLGA-3), de proporção lactide/glicolide 80/20 e do copolímero de PLGA de proporção 50/50(lactide/glicolide). Os resultados de todas as sínteses estão resumidos na Tabela 8.

Tabela-8. Propriedades térmicas dos polímeros de PLLA e dos copolímeros de PLGA obtidas através de análise por DSC, onde Tg (temperatura de transição vítrea, obtida pelo 2ºaquecimento); Tm (Temperatura de fusão); ΔH_m (Entalpia de fusão) e Xc (grau de cristalinidade).

Síntese	Tg (°C) 2ºaquecimento	Tm(°C)	ΔH_m (J/g)	Xc %
PLLA-1	59	178	51	53
PLLA-2	58	178	48	52
PLLA-3	57	179	55	58
PLLA-4	59	178	52	55
PLLA literatura	67	178	53	57
PLGA1 (80/20)	56	153	6	
PLGA2 (80/20)	56	148	10	
PLGA3 (80/20)	55	157	22	
PLGA4 (50/50)	40	-----	-----	-----

Curvas de DSC do 1º e 2º aquecimento para as síntese de PLLA

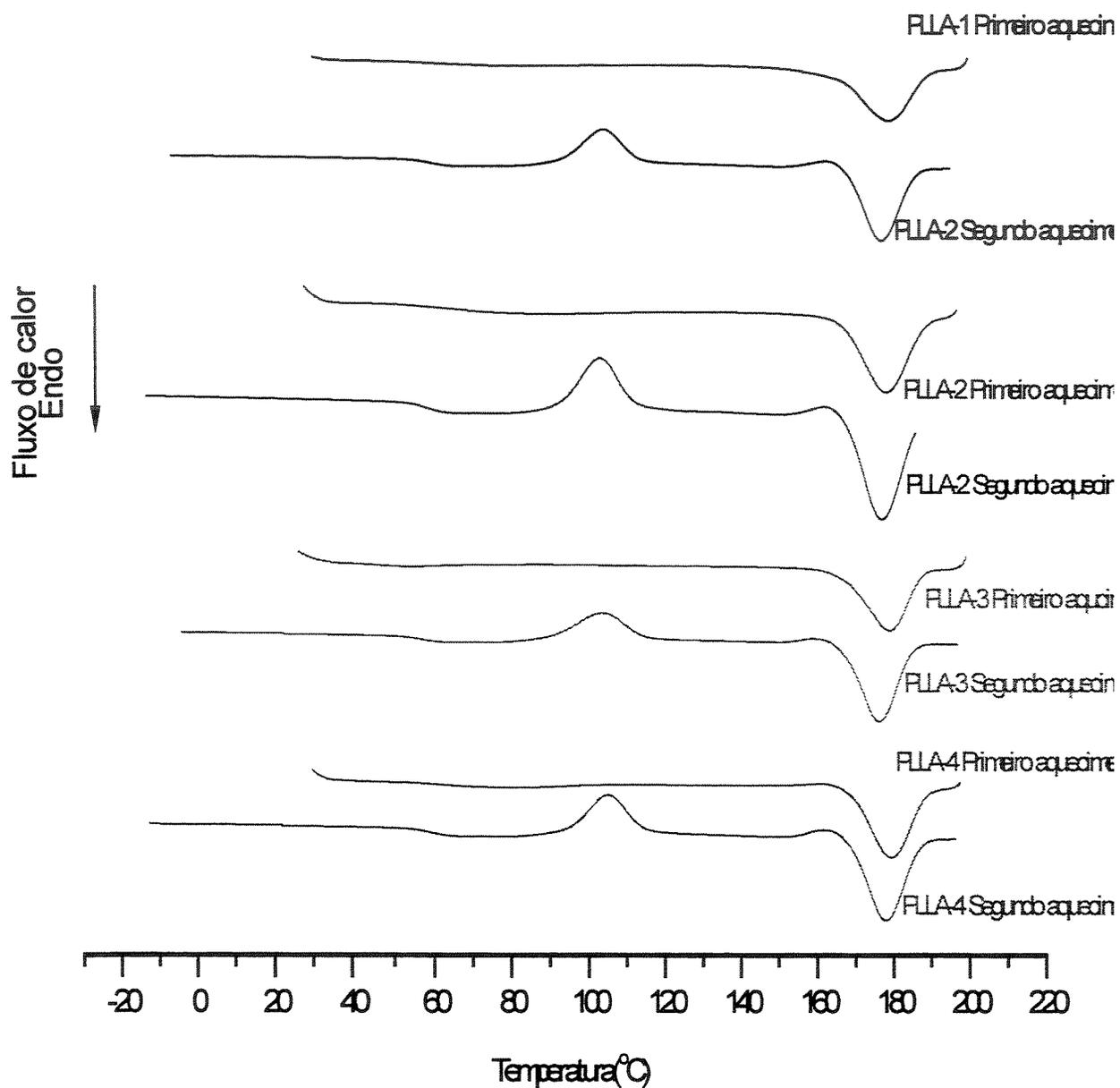


Figura 26-Termogramas obtidos por DSC referentes aos 1º e 2º aquecimentos das sínteses do PLLA.

Com base na curva de DSC, Figura 26, pode-se verificar que a análise térmica dos homopolímeros PLLA demonstrou ser o PLLA semicristalino. O valor de Tg para o PLLA da literatura é referente a fibras do material com elevado grau de cristalinidade.

O primeiro aquecimento da curva de DSC traz informações muito importantes que caracterizam o polímero, como o pico de fusão (Tm) que esteve em torno de 178 °C para o PLLA. Além do pico de fusão o 1º aquecimento mostra a Tg do material, mas com pouca nitidez, por volta de 59°C.

Após um resfriamento controlado (30 °C/min), seguido de um novo aquecimento, verifica-se com nitidez a Tg do polímero, 59 °C, além de se verificar também o pico referente a cristalização do material e também de sua fusão. Pôde-se verificar que não houve alteração dos valores de Tg, Tc e Tm nas diversas sínteses do PLLA, Tabela 8.

No caso do copolímero PLGA, a análise de DSC é particularmente importante na verificação da influência que um 2º mero têm na cadeia do polímero. Através da análise da tabela 8 pode-se verificar que a presença das unidades de glicolila na cadeia do polímero provoca uma diminuição da temperatura de transição vítrea (Tg), uma diminuição da temperatura de fusão do polímero, além de uma diminuição bastante significativa na variação de entalpia, ΔH_m , associada a essa transição, Tabela 8.

A Figura 27 mostra as curvas de DSC do 1º e 2º aquecimentos para o PLGA-3.

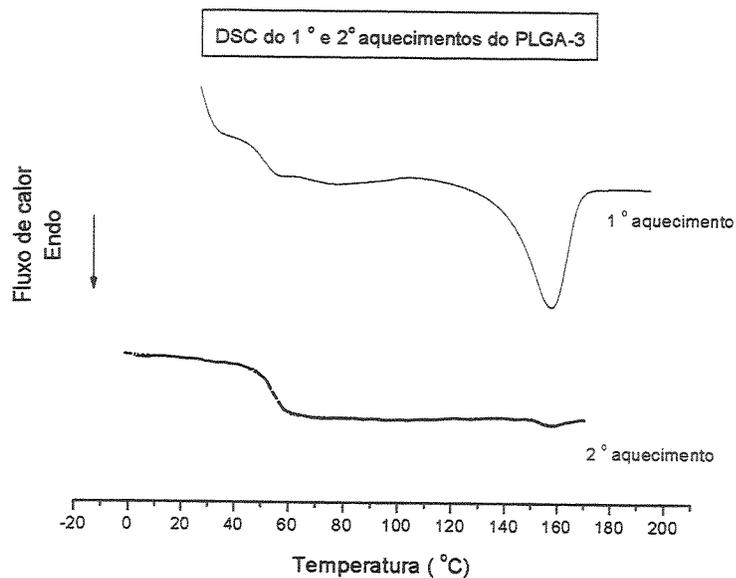


Figura 27- Curvas de DSC do 1° e 2° aquecimento do copolímero PLGA-3, na razão 80/20.

Os copolímeros de PLGA na proporção 80/20 ainda apresentam uma certa cristalinidade, o que está de acordo com a literatura (MIDDLETON & TIPTON, 2000), que descreve que esses copolímeros de PLGA exibirão alguma cristalinidade quando um dos monômeros que fazem parte de sua estrutura (lactide ou glicolide) estiverem presentes numa percentagem maior do que 70 % em mol, que é o caso do PLGA 80/20. Isso é bem compreendido se levarmos em conta que tanto o L-lactide como o glicolide são semicristalinos.

A explicação para o abaixamento tanto da temperatura de fusão, quanto do calor associado a esta transição dos copolímeros de PLGA (80/20) comparado ao homopolímero PLLA pode ser explicado da seguinte forma: unidades de glicolide dentro da cadeia do copolímero tenderão a serem excluídas dos cristalitos, resultando assim numa diminuição da cristalinidade global e na formação de cristalitos menores, que por sua vez necessitarão de uma menor temperatura para fundirem (GRIJMA et al, 1990). Além disso, a incorporação parcial de unidades glicolide na estrutura do copolímero, aumentará os defeitos nas regiões cristalinas, causando uma diminuição do calor de fusão e da temperatura de fusão.

No caso do copolímero PLGA na proporção 50/50 verificamos por seu termograma que se trata de um material totalmente amorfo, apresentando somente a transição vítrea (T_g), o que está de acordo com a literatura (MIDDLETON & TIPTON, 2000).

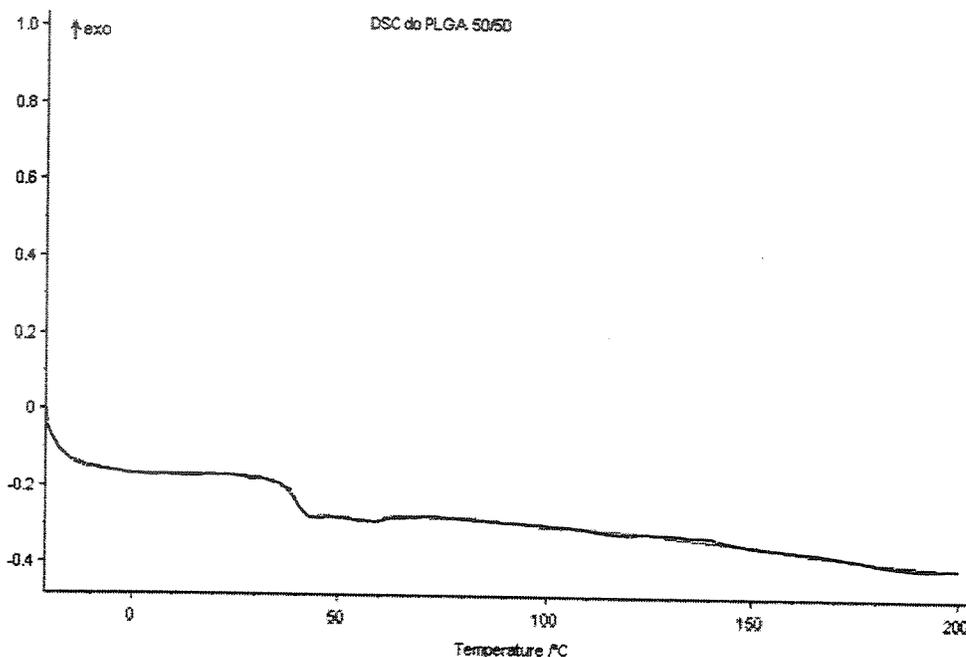


Figura 28 - Curva de DSC do 1º aquecimento do PLGA-4, na razão 50/50.

3.3.9 Análise Termogravimétrica (TGA) para PLLA e PLGA

Através desta análise pode-se verificar qual a temperatura aproximada que o homopolímero PLLA e o copolímero PLGA sintetizados têm sua degradação iniciada. A Tabela 9 contempla os valores das temperaturas de início de degradação para esses materiais.

Tabela 9- Temperatura de início de degradação, obtidas por TGA, para as diversas sínteses de PLLA e PLGA.

Síntese	Temperatura de início de perda de massa Ti (°C)
PLLA-1	280
PLLA-2	290
PLLA-3	310
PLLA-4	332
PLLA(Purac)	260
PLGA-1 (80/20) (Mw = 130000g/mol)	267
PLGA-2 (80/20) (Mw = 285000g/mol)	326
PLGA-3 (80/20) (Mw = 95500 g/mol)	240
PLGA-4 (50/50)	323

As diferenças de temperatura de início de degradação do PLLA não podem ser atribuídas ao parâmetro massa molar destes polímeros, já que a ordem de grandeza referente à distribuição de massa molar é a mesma para as diversas sínteses (10^5 g/mol). O polímero PLLA-1 tem uma diferença de temperatura de início de degradação em relação ao PLLA-2 de aproximadamente 10 °C, o que não representa uma diferença significativa.

No caso do copolímero as diferenças verificadas na temperatura de início de degradação para a relação 80/20 podem estar associadas ao fator massa molar, que apesar de apresentar a mesma ordem de grandeza para as primeiras sínteses do copolímero 10^5 g/mol, o valor absoluto do PLGA da 2ª síntese é Mw = 283500 g/mol, enquanto que o Mw = 131000 g/mol para PLGA 1ª síntese.

Analisando agora o copolímero PLGA-1 80/20 e o PLGA 50/50, verifica-se que o copolímero que possui a maior estabilidade térmica é aquele que apresenta em sua estrutura a maior quantidade de glicolide, o que está de acordo com a literatura (GILDING & REED, 1979).

3.4 ESTUDO DA DEGRADAÇÃO “IN VITRO” DAS MEMBRANAS DE PLLA E PLGA

A reação envolvida no processo de degradação dos materiais PLLA e PLGA está ilustrada a seguir, Figura 29:

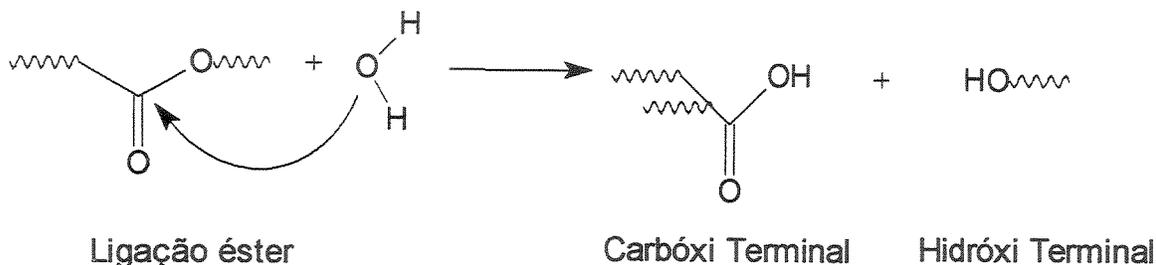


Figura 29- Reação envolvida no processo de degradação do PLLA e PLGA

Durante o processo de degradação as moléculas de H₂O atacam as ligações ésteres das cadeias dos polímeros, e como consequência da hidrólise sofrida por essas ligações originam-se no meio cadeias menores (oligômeros até monômeros), com terminações ácidas.

Como já descrito no Capítulo-1, a facilidade com que as moléculas de H₂O penetram nas unidades provenientes do mero glicolide é maior do que a facilidade com que penetram no mero lactide, em função do maior impedimento estérico que existe neste último (presença do grupo CH₃). Dessa forma, a taxa de degradação de membranas de PLGA é maior do que a de membranas de PLLA puro. Novamente estão dispostas as estruturas dos monômeros, para melhor compreensão do descrito acima, Figura 30

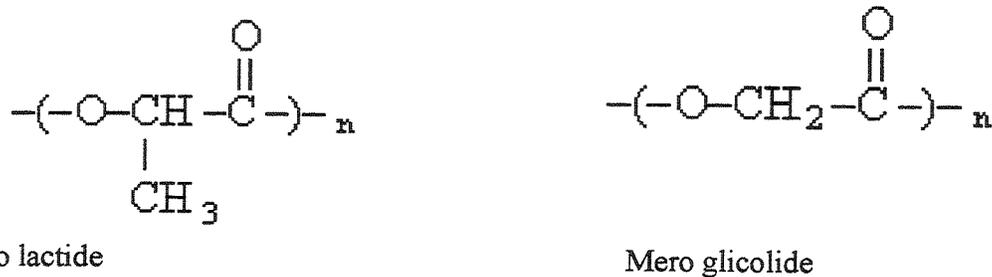


Figura 30- Estruturas dos monômeros formadores da cadeia de PLLA e PLGA.

3.4.1 ANÁLISE DE DSC PARA MEMBRANAS DE PLLA

A degradação “in vitro” das membranas de PLLA foi acompanhada pela técnica de DSC, através dos resultados obtidos dos 1º e 2º aquecimentos, sendo que no 1º aquecimento obteve-se o valor de T_m (temperatura de fusão) e $\Delta H_{\text{fusão}}$ (entalpia de fusão) do PLLA e no 2º aquecimento obtiveram-se os valores de T_g (temperatura de transição vítrea), T_c (temperatura de cristalização) com seu respectivo ΔH_c (entalpia de cristalização), T_m e ΔH de fusão. A Figura 31 mostra os termogramas para o 1º aquecimento de PLLA-4 em função do tempo de degradação, sendo verificado uma T_m por volta de 180 °C.

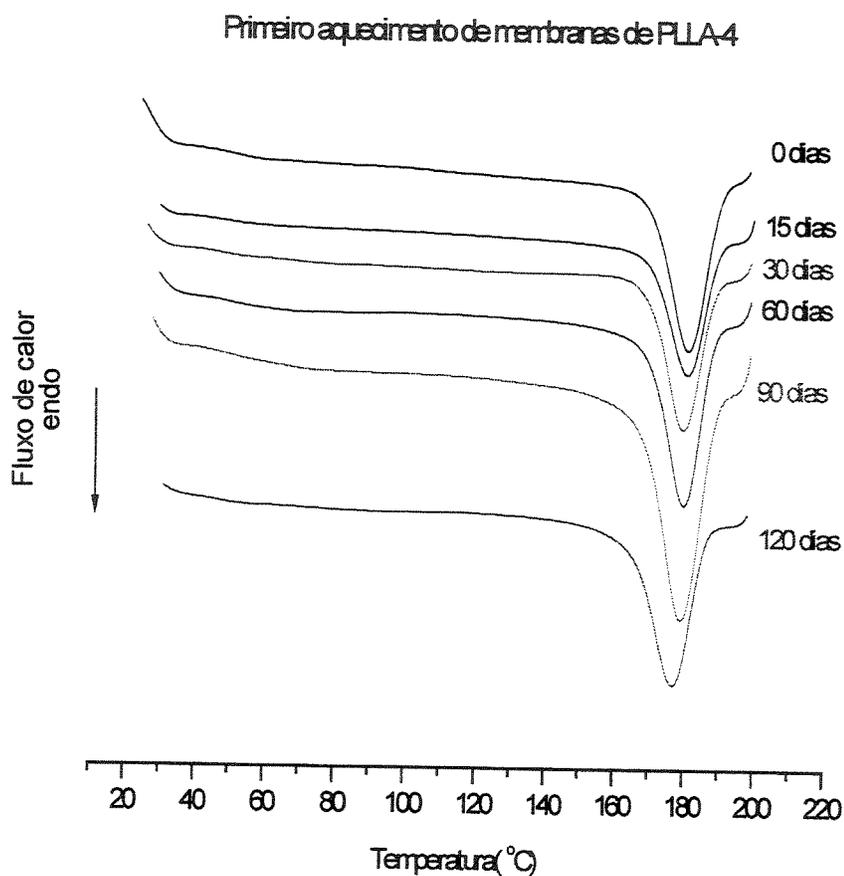


Figura 31- Termograma de DSC do 1º aquecimento de membranas de PLLA-4 em função do tempo de degradação.

O pico de fusão presente em todos os tempos estudados comprova a cristalinidade do PLLA. A entalpia de fusão associada a este pico tem um ligeiro acréscimo com o passar da degradação. Neste aquecimento não é possível verificar, com nitidez, a temperatura de transição vítrea das membranas, pois as membranas apresentam uma alta cristalinidade. A Tabela 10 mostra os dados obtidos a partir do 1º aquecimento para membranas de PLLA, submetidas à degradação. O grau de cristalinidade foi calculado de acordo com a equação 1 (item 2.3.4).

Tabela 10- Dados de Temperatura de fusão (T_m), Entalpia de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade para membranas de PLLA-4, em função do tempo de degradação, obtidos do 1º aquecimento das curvas de DSC.

Tempo de degradação (dias)	Temperatura de fusão T_m (°C)	Entalpia de fusão ΔH_f (J/g)	Grau de cristalinidade X (%)
0	180	41	43
15	181	41	44
30	180	48	51
60	180	48	51
90	179	50	54
120	178	54	57

Pela Tabela 10, pode-se verificar que não houve variação do valor da T_m no período de estudo, já o $\Delta H_{\text{fusão}}$ sofreu um acréscimo no transcorrer do processo de degradação, em função das membranas estarem aumentando seu grau de cristalinidade.

O aumento do grau de cristalinidade do PLLA, durante sua degradação, é atribuído, segundo a literatura a dois fatores: o primeiro fator, segundo PISTNER et al, 1993, está relacionado ao fato de polímeros semicristalinos sofrerem ataque preferencial em suas regiões amorfas, devido à maior susceptibilidade de penetração da água, nestas regiões. Dessa forma, a percentagem relativa de regiões cristalinas aumenta em função do tempo de degradação. O segundo fator está associado à cisão hidrolítica e conseqüente formação de cadeias poliméricas de

menor massa molar, o que permite um rearranjo destas cadeias, de forma a dar origem a novos cristais. (DUEK, et al, 1999).

A Figura 32 mostra o termograma para o 2º aquecimento de PLLA-4 em função do tempo de degradação. O 2º aquecimento mostra com nitidez a temperatura de transição vítrea (T_g) do PLLA-4, assim como sua temperatura de cristalização (T_c) e sua temperatura de fusão (T_m).

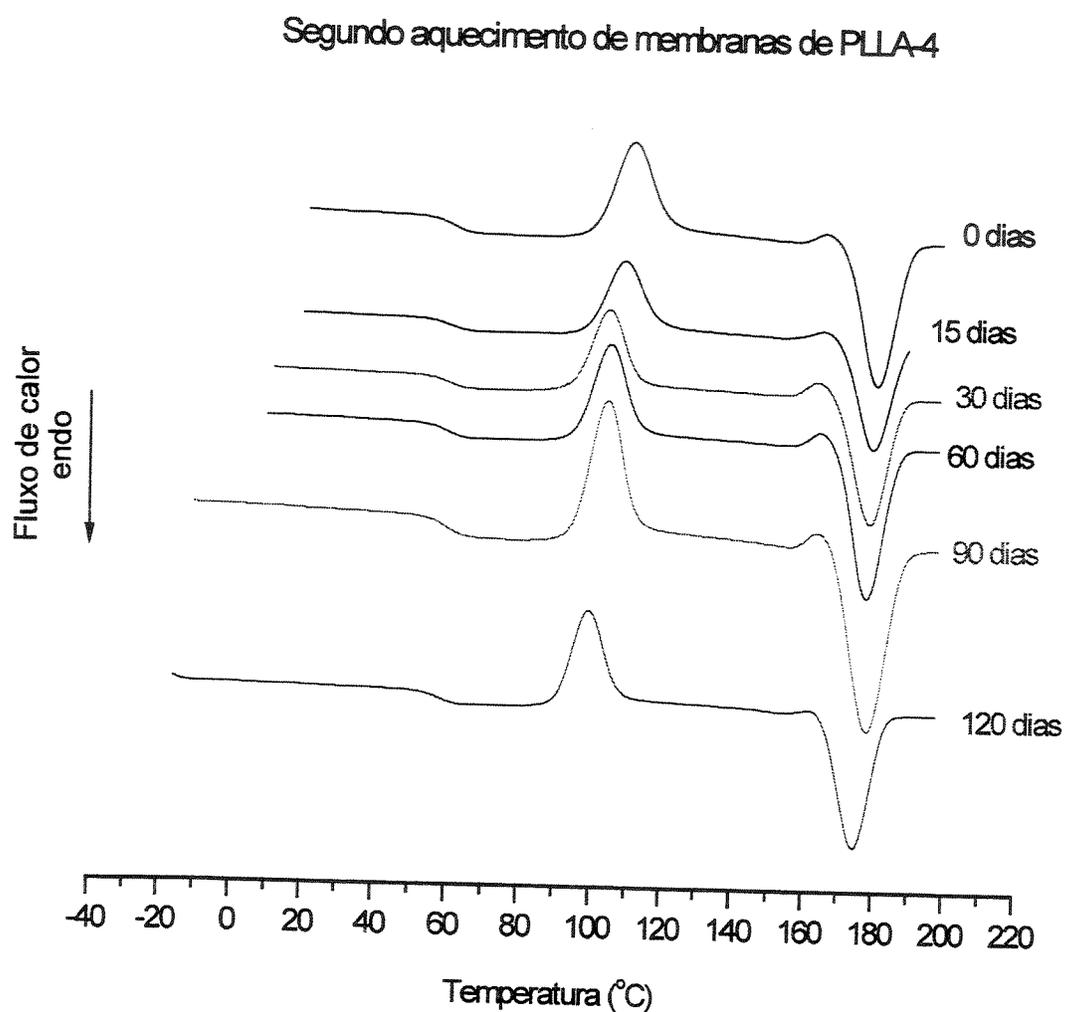


Figura 32- Termograma de DSC do 2º aquecimento de membranas de PLLA-4 em função do tempo de degradação.

Os resultados referentes ao 2º aquecimento das membranas de PLLA nos diversos tempos de degradação estão dispostos na Tabela 11:

Tabela 11 - - Dados obtidos das curvas de DSC do 2º aquecimento de membranas de PLLA-4, em função do tempo de degradação, onde Tg (temperatura de transição vítrea); Tc (temperatura de cristalização); ΔH_c (entalpia de cristalização); Tm (temperatura de fusão) e ΔH_f (entalpia de fusão).

Tempo de degradação (dias)	Temperatura de transição vítrea Tg (°C)	Temperatura de cristalização Tc (°C)	Entalpia de cristalização ΔH_c (J/g)	Temperatura de fusão Tm (°C)	Entalpia de fusão ΔH_f (J/g)
0	60	110	-32	180	48
15	59	107	-33	178	51
30	60	103	-33	178	60
60	59	104	-34	177	57
90	60	103	-35	178	59
120	58	99	-33	175	53

No período estudado, não foi verificada mudança significativa na temperatura de transição vítrea do material para as membranas de PLLA. O aparecimento do pico de cristalização para o PLLA durante o 2º aquecimento sugere que a taxa de resfriamento envolvida no processo ($30\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) foi rápida o suficiente para que tenha sido evitado uma lenta nucleação do material, e conseqüente crescimento de cristais durante esse resfriamento. Dessa forma, o 2º aquecimento possibilitou que a fração de material potencialmente cristalizável presente no PLLA tenha se manifestado.

Verificou-se uma discreta diminuição dessa temperatura de cristalização, que pode ser explicado pelo fato do processo de degradação permitir que a cristalização ocorra a uma temperatura mais baixa.

Em relação à entalpia de fusão do PLLA, assim como no 1º aquecimento, foi verificado um aumento, como resultado do aumento do grau de cristalinidade.

3.4.2 ANÁLISE DE DSC PARA MEMBRANAS DE PLGA

A degradação das membranas de PLGA-1 ($M_w = 131000$ g/mol) e PLGA-2 ($M_w = 283000$ g/mol) também foram acompanhadas através do 1º e 2º aquecimentos. As Figuras 33 e 34 mostram os termogramas referentes ao 1º aquecimento de membranas de PLGA-1 e PLGA-2, nos diferentes tempos de degradação. Os dois copolímeros apresentam uma baixa cristalinidade antes do estudo de degradação ser iniciado. Mas tanto para o PLGA-1 como para o PLGA-2, nota-se um aumento deste pico de fusão durante o processo de degradação.

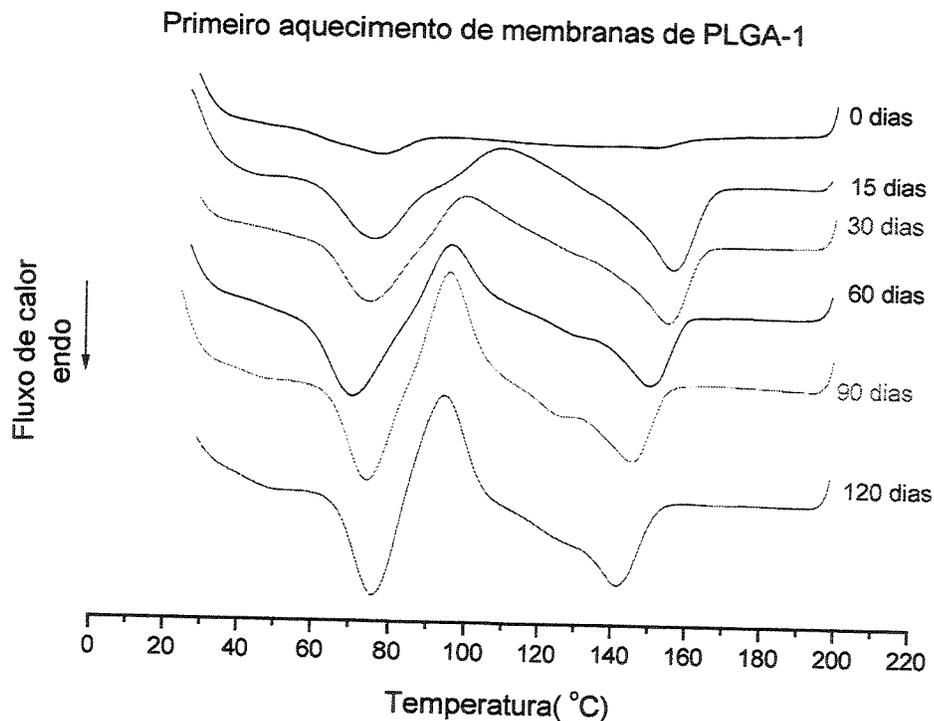


Figura 33- Termograma de DSC do 1º aquecimento de membranas de PLGA-1 em função do tempo de degradação.

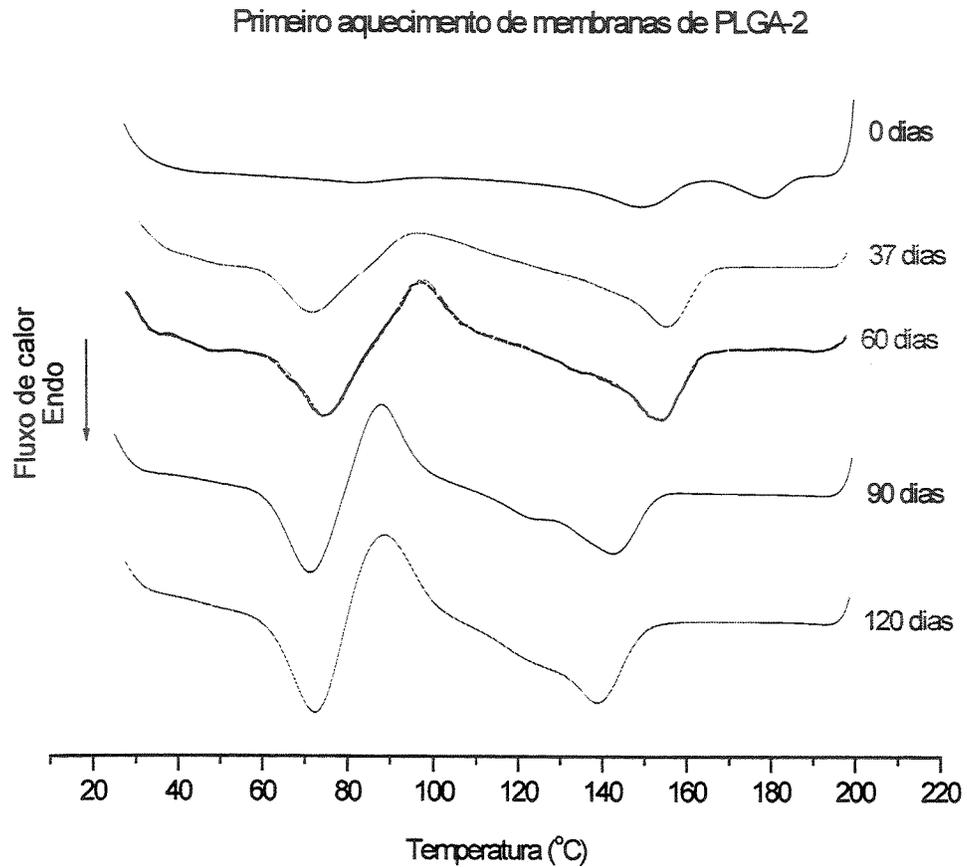


Figura 34 - Termograma de DSC do 1º aquecimento de membranas de PLGA-2 em função do tempo de degradação

Nota-se tanto na Figura 33 como na Figura 34, que durante o processo de degradação ocorre uma queda acentuada do fluxo de calor próximo à temperatura de transição vítrea. Esse “poço” é decorrente das tensões acumuladas do material, e, portanto do processo de relaxação do polímero.

A Tabela 12 mostra dados obtidos a partir do 1º aquecimento para os copolímeros

Tabela 12- Dados de temperatura de fusão (T_m), Entalpia de fusão (ΔH_f) para o PLGA-1 ($M_w = 130000 \text{ g/mol}$) e para o PLGA-2 ($M_w = 283000 \text{ g/mol}$), obtidos através do 1º aquecimento das curvas de DSC.

Tempo de degradação (dias)	Temperatura de fusão T_m (°C) PLGA-1	Entalpia de fusão ΔH_f (J/g) PLGA-1	Temperatura de fusão T_m (°C) PLGA-2	Entalpia de fusão ΔH_f (J/g) PLGA-2
0	155	2	150 e 179	8 e 4 respect.
15	156	22	-----	-----
30	154	22	156	21
60	150	23	148	24
90	145	29	142	23
120	141	27	139	22

Pode-se verificar que o perfil apresentado durante o processo de degradação, para as membranas dos copolímeros de diferente massa molar é o mesmo, como o esperado. Sendo que no tempo zero, a cristalinidade apresentada para as amostras é muito baixa, mas já é nitidamente verificada após 15 dias de degradação. A cristalização do copolímero está fortemente associada à degradação preferencial das unidades provenientes do glicólico (GA).

Su Ming et al, 1990 a saída das unidades de GA da cadeia do copolímero, torna-as mais isotáticas e, portanto, potencialmente cristalizáveis. Além disso, a diminuição de tamanho das cadeias, possibilita uma maior liberdade para seus segmentos, permitindo assim, que cristalizem sob as condições de degradação (37 ° C, meio aquoso). Verifica-se que existe uma tendência, no transcorrer da degradação, a uma diminuição da temperatura de fusão, já que os cristais formados durante esse processo possuem espessuras de lamelas cada vez menores.

O que diferenciou as membranas preparadas com PLGA-1 ($M_w = 131000$ g/mol) das membranas preparadas com PLGA-2 ($M_w = 283000$ g/mol), pelo 1º aquecimento, foi que no tempo “zero” foram observado dois picos de fusão para o PLGA-2, estando o primeiro deles em 150 °C e o segundo deles em 179 °C (mesma temperatura apresentada pelo homopolímero , PLLA). Como no PLGA-2 o comprimento das cadeias do copolímero é maior do que no PLGA-1, deve haver grandes segmentos de unidades do lactide (LA), naquele, o que resulta no aparecimento do pico de fusão numa temperatura maior.

A Figuras 35 e 36 mostram os termogramas para o 2º aquecimento das amostras de PLGA-1 e PLGA-2, respectivamente. Verifica-se com clareza a temperatura de transição vítrea, a T_c e a T_m dos copolímeros.

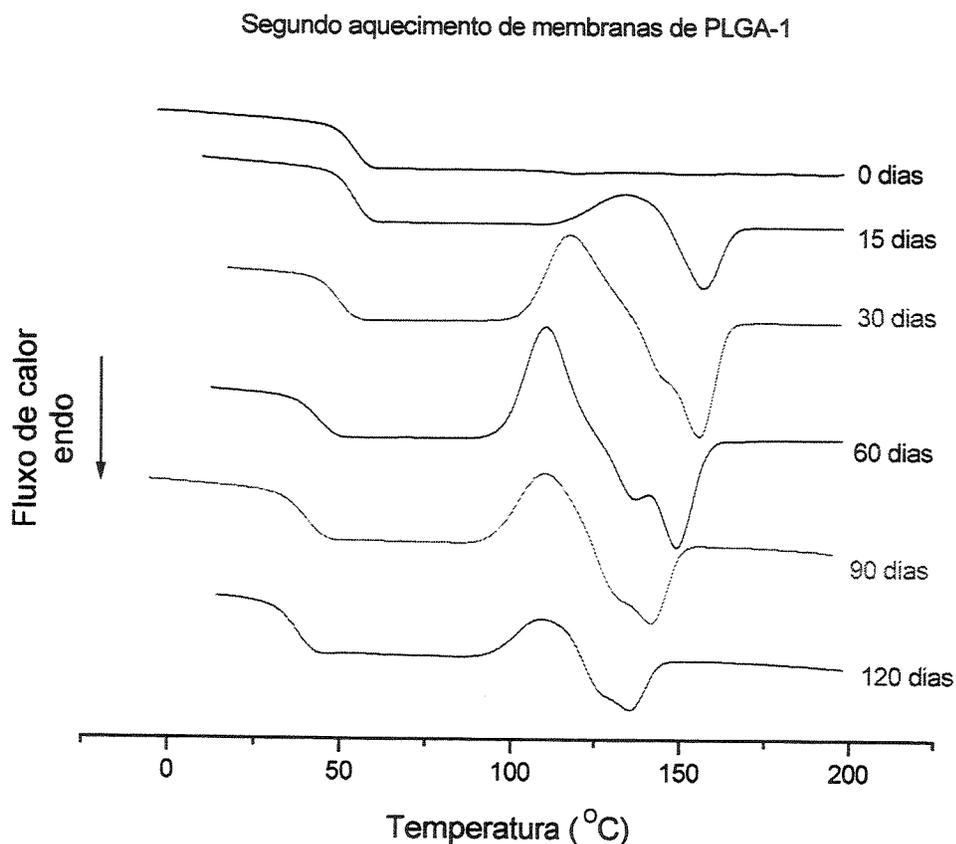


Figura 35- Termograma de DSC do 2º aquecimento de membranas de PLGA-1 em função do tempo de degradação

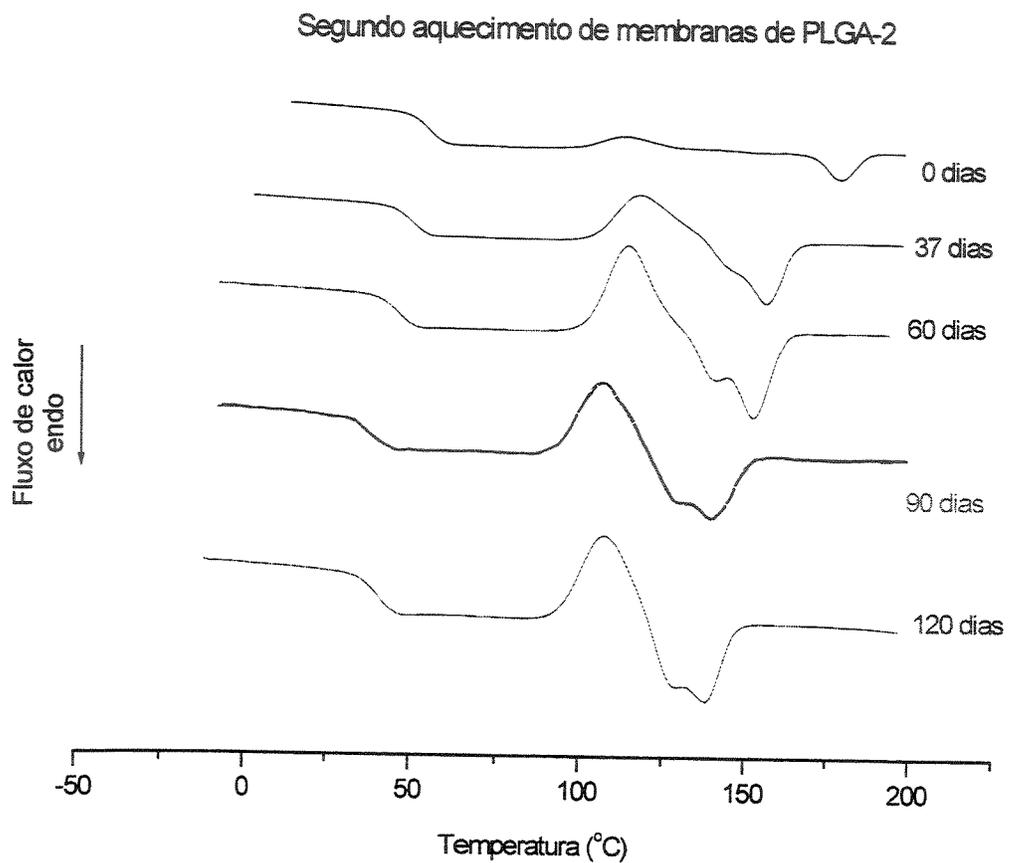


Figura 36- Termograma de DSC do 2º aquecimento de membranas de PLGA-2 em função do tempo de degradação.

Nota-se, tanto para o PLGA-1 quanto para o PLGA-2, a presença de um pico duplo de fusão, o que é resultado de rearranjos cristalinos diferentes no material.

A tabela 13 contém os dados obtidos do 2º aquecimento de membranas de PLGA-1 e PLGA-2.

Tabela 13 - Dados obtidos das curvas de DSC do 2° aquecimento do PLGA-1 e PLGA-2, onde Tg (temperatura de transição vítrea); Tc (temperatura de cristalização); ΔH_c (entalpia de cristalização); Tm (temperatura de fusão) e ΔH_f (entalpia de fusão)

Tempo de degradação (dias)	Tg(°C) (PLGA-1)	Tg(°C) (PLGA-2)	Tc(°C) (PLGA-1)	Tc(°C) (PLGA-2)	ΔH_c (J/g) (PLGA-1)	ΔH_c (J/g) (PLGA-2)	Tm(°C) (PLGA1)	Tm(°C) (PLGA-2)	ΔH_f (J/g) (PLG1)	ΔH_f (J/g) (PLGA-2)
0	54	56	----	113	-----	-3	155	179	1	4
15	50		135		-7		156		5	
30	49	50	118	117	-21	-16	156	156	19	14
60	44	40	110	108	-23	-23	149	145	22	18
90	40	39	109	106	-18	-20	142	140	16	16
120	37	40	109	106	-8	-18	135	138	7	16

Através do 2° aquecimento pode-se verificar com clareza a transição vítrea (Tg) dos copolímeros, sendo verificado um abaixamento da temperatura, tanto para membranas preparadas do PLGA-1 quanto do PLGA-2. Esse efeito é explicado pela literatura (SU MING et al, 1990), como sendo decorrente do efeito plastificante da absorção de H₂O pelas membranas, mas como a queda da Tg foi bastante expressiva, provavelmente além do efeito plastificante mencionado pelo autor, o avançado grau de degradação em que essas membranas se encontram a partir de 60 dias influencia nesta queda.

Pelo 2° aquecimento, verifica-se também o pico de cristalização e o pico de fusão dos copolímeros. A temperatura de cristalização sofre, uma significativa queda, observada para os dois copolímeros, em função do tempo de degradação. A explicação para essa queda, é que com o passar da degradação, os cristais têm uma maior facilidade para serem formados, em função da maior liberdade que as cadeias têm em se reorganizarem.

Já o valor de ΔH associado à cristalização tem um aumento até o período de aproximadamente 60 dias, para os dois copolímeros, em função das membranas estarem se tornando mais cristalinas. A partir deste período o valor de ΔH_c também começa a cair, em função das membranas neste período já estarem em avançado processo de degradação. Visualmente as membranas de PLGA estão totalmente quebradiças a partir de 60 dias de imersão

em tampão fosfato a 37°C, e apresentam uma coloração esbranquiçada logo nos primeiros dias de degradação, o que é mais um indicativo de que estão se tornando cristalinas.

O que diferenciou as membranas preparadas com PLGA-1 ($M_w = 131000$ g/mol) das membranas preparadas com PLGA-2 ($M_w = 283000$ g/mol), pelo 2º aquecimento, foi que no tempo “zero” a temperatura de fusão para o PLGA-2 foi a de 179 °C (mesma temperatura apresentada pelo homopolímero, PLLA). Assim como já mencionado para o 1º aquecimento, a explicação pode ser devido ao fato do comprimento das cadeias do copolímero PLGA-2 ser maior do que o do PLGA-1, dessa forma, deve haver grandes segmentos de unidades do lactide (LA), naquele, o que resulta no aparecimento do pico de fusão numa temperatura maior.

3.4.3 ANÁLISE DE TGA PARA MEMBRANA DE PLLA

O processo de perda de massa para as membranas de PLLA, verificada pela técnica de TGA, ocorre em um único estágio, com pequenas diferenças da temperatura de início de degradação com o passar dos dias de imersão em tampão fosfato. Essas diferenças, no entanto, não são significativas. Embora, para a membrana de PLLA tenha se verificado uma queda na temperatura onde a perda de massa é máxima a partir de 90 dias de estudo, não se pode concluir nada quanto a esse comportamento, já que seria necessário um tempo mais longo de imersão em tampão fosfato da membrana para uma avaliação melhor da situação.

A Figura 37 é referente às curvas termogravimétricas apresentadas pelas membranas de PLLA durante o período de degradação.

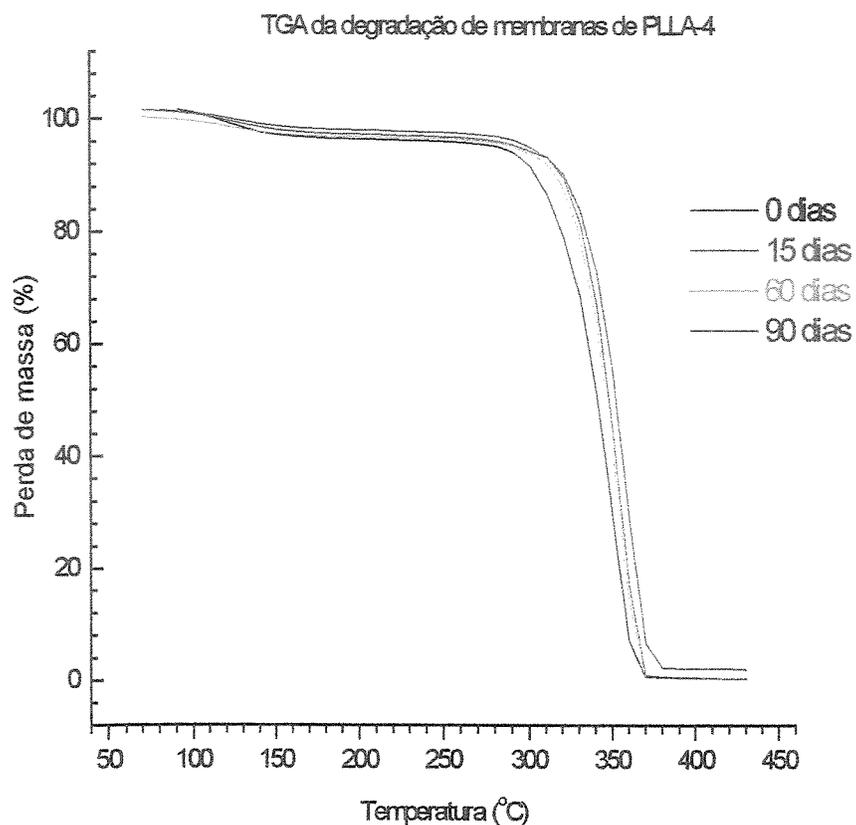


Figura 37-Curvas Termogravimétricas de membranas de PLLA-4 em função do tempo de degradação

A Tabela 14 mostra dados obtidos das curvas termogravimétricas das amostras de PLLA-4, durante o período de degradação. São apresentadas as temperaturas de início de perda de massa e as temperaturas onde a perda de massa é máxima.

Tabela 14- Dados de temperatura de início de degradação e temperatura onde a perda de massa é máxima para membranas de PLLA-4, em função do tempo de degradação.

Tempo de degradação (dias)	Temperatura de início de perda de massa T_i (°C)	Temperatura onde a perda de massa é máxima $T_{máx}$ (°C)
0	286	344
15	290	350
60	302	345
90	300	311

3.4.3 ANÁLISE DE TGA PARA MEMBRANAS DE PLGA

A análise termogravimétrica para membrana do PLGA também apresentou um único estágio de perda de massa, contudo, verifica-se diferença na temperatura de início de perda de massa comparado ao PLLA.

A Figura 38 é referente às curvas termogravimétricas apresentadas pelas membranas de PLGA durante o período de degradação.

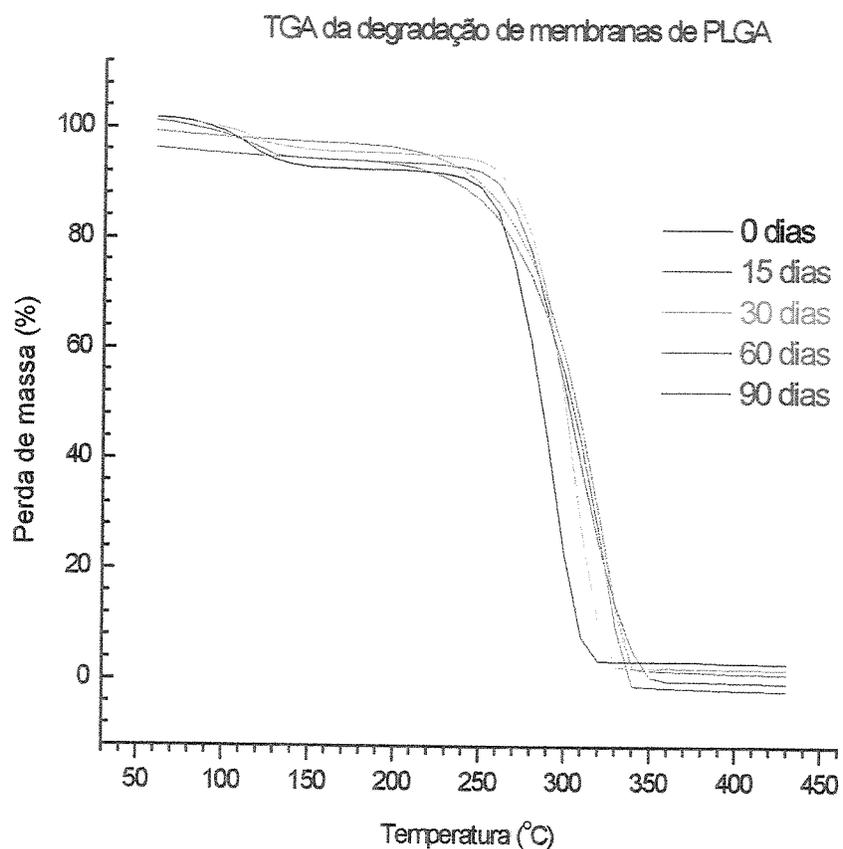


Figura 38- Curvas Termogravimétricas de membranas de PLGA-1 em função do tempo de degradação

A Tabela 15 mostra dados obtidos das curvas termogravimétricas das amostras de PLGA, durante o período de degradação. São apresentadas as temperaturas de início de degradação e as temperaturas onde a perda de massa é máxima.

Tabela 15- Dados de temperatura de início de degradação e temperatura onde a perda de massa é máxima para membranas de PLGA, em função do tempo de degradação.

Tempo de degradação (dias)	Temperatura de início de perda de massa T_i (°C)	Temperatura onde a perda de massa é máxima $T_{máx}$ (°C)
0	243	286
15	250	294
30	251	294
60	265	323
90	230	312

A partir de 60 dias de degradação a membrana se encontra visualmente bastante degradada, assim como mencionado no item 3.4.2, portanto com 90 dias de degradação, o material se encontra num estágio tão avançado de degradação, que o torna mais susceptível à degradação térmica. Em outras palavras a resistência à temperatura da membrana de PLGA começa a ser afetada a partir de 60 dias de imersão em tampão fosfato, todavia, assim como para a membrana de PLLA, a técnica estudada não nos forneceu nenhum dado conclusivo para a membrana de PLGA; para tanto, existe a necessidade de prolongar o tempo de estudo dessas membranas.

3.4.5 ANÁLISE DE MEV PARA MEMBRANAS DE PLLA

A morfologia da membrana de PLLA foi acompanhada durante o período de imersão em tampão fosfato (37 °C) . A Figura 39 mostra micrografias de superfície apresentadas pelas membranas do homopolímero antes da degradação. A Figura 40 mostra a micrografia de superfície de fratura antes da degradação.

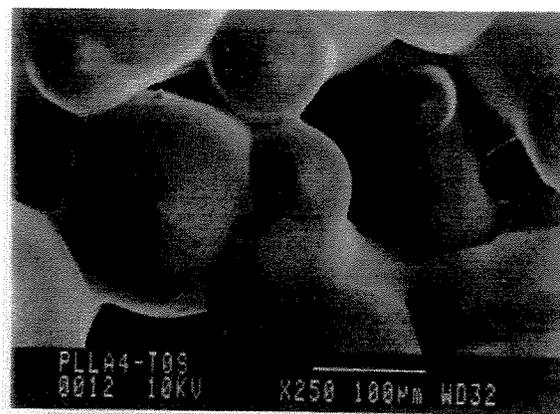
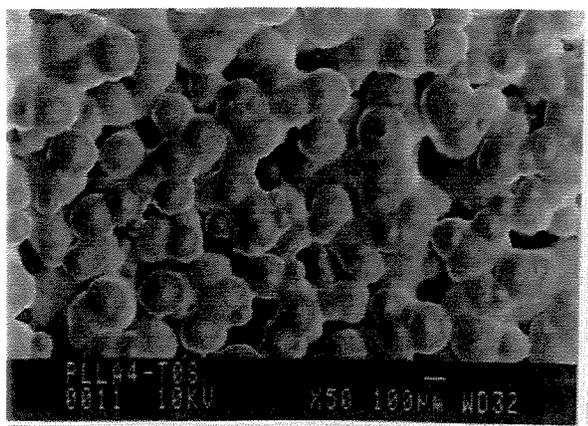


Figura 39- Microscopia eletrônica de varredura de superfície de membrana de PLLA antes da degradação.

Pode-se verificar pela Figura 39 que a superfície da membrana de PLLA apresenta-se na forma densa, sendo a superfície irregular com pequenas concavidades, estando o material aglomerado em pequenas regiões que se juntam em toda sua extensão na forma de glóbulos. Com base em outros trabalhos (LUCIANO et al, 1998; ZOPPI et al, 1999 e PEREIRA et al, 1999) trata-se de esferulitos.

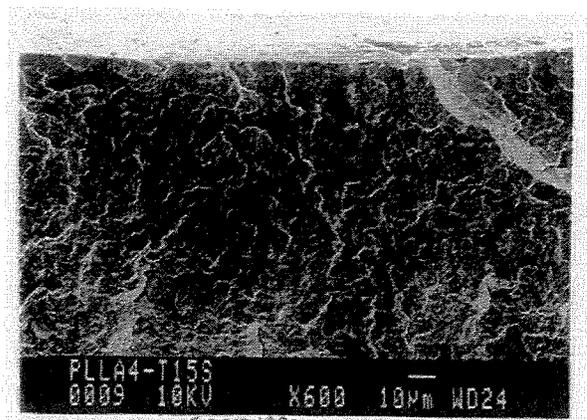


Figura 40- - Microscopia eletrônica de varredura de superfície de fratura da membrana de PLLA antes da degradação.

A micrografia da superfície de fratura para membranas de PLLA apresenta-se morfologicamente densa.(Figura 40).

As micrografias referentes à superfície da membrana de PLLA transcorridos 90 dias de imersão em tampão fosfato estão dispostas na Figura 41.

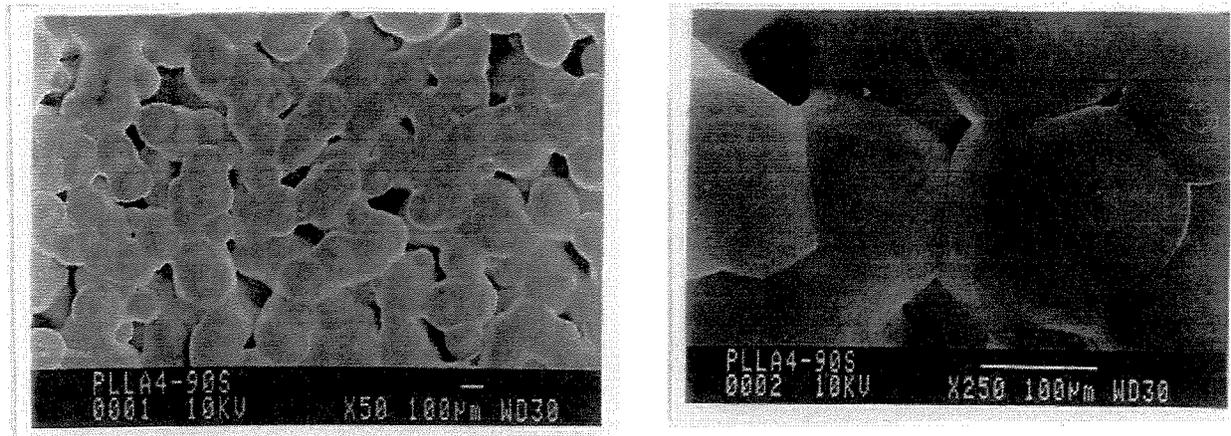


Figura 41- Microscopia eletrônica de varredura de superfície de membrana de PLLA após 90 dias de imersão em tampão fosfato.

Pode-se verificar que não houve alteração na morfologia destas membranas durante o tempo de estudo. A Figura 42 mostra a micrografia referente à superfície de fratura da membrana de PLLA

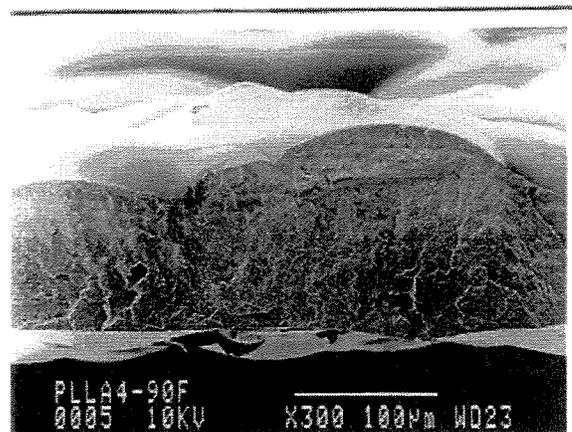


Figura 42- Microscopia eletrônica de varredura de superfície de fratura de membrana de PLLA após 90 dias de imersão em tampão fosfato.

A micrografia da superfície de fratura do PLLA após 90 dias de degradação se mantém densa.

3.4.6 ANÁLISE DE MEV DAS MEMBRANAS DE PLGA

A morfologia da membrana de PLGA foi acompanhada durante o período de imersão em tampão fosfato (37 °C). A Figura 43 é referente à micrografia de superfície para a membrana de PLGA antes da degradação

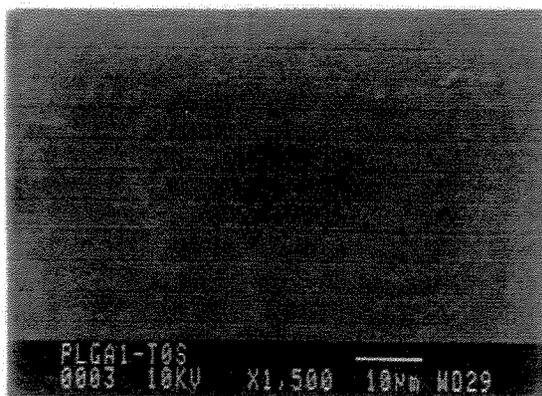


Figura 43 - Microscopia eletrônica de varredura de superfície de membrana de PLGA antes da degradação.

Como se pode notar, a membrana de PLGA no tempo inicial se mostra completamente lisa e homogênea, bastante diferente, portanto da morfologia apresentada para o homopolímero puro (PLLA). A Figura 44 mostra a micrografia da superfície de fratura para a membrana de PLGA.



Figura 44- Microscopia eletrônica de varredura de superfície de fratura membrana de PLGA antes da degradação.

A micrografia da superfície de fratura apresenta-se morfologicamente densa para o PLGA, Figura 44.

Como já mencionado anteriormente, a membrana de PLGA, após 60 dias de imersão em tampão fosfato se encontra visualmente degradada e a análise de microscopia eletrônica de varredura só veio a confirmar microscopicamente esta degradação. A Figura 45 é referente à micrografia de superfície da membrana de PLGA transcorridos 60 dias.

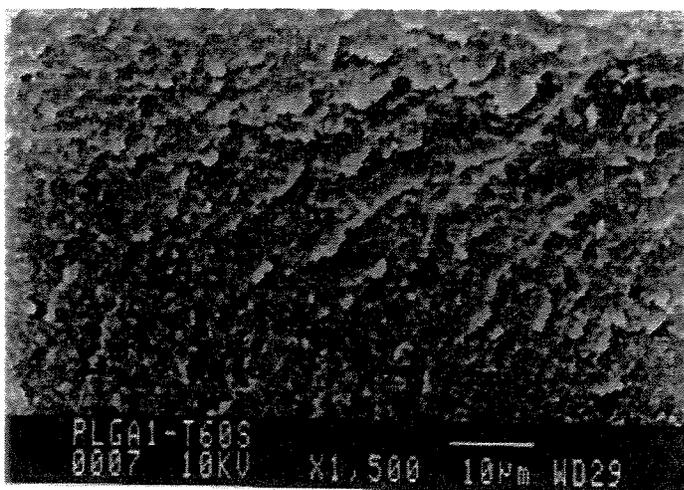


Figura 45- Microscopia eletrônica de varredura de superfície de membrana de PLGA após 60 dias de imersão em tampão fosfato.

Através desta Figura 45, verifica-se que a membrana se encontra totalmente fragmentada, ou seja, se encontra num estágio avançado de degradação.

A partir de 60 dias já se tornou inviável a análise de microscopia eletrônica de varredura de superfície de fratura da membrana, já que não era mais possível fraturá-la em N₂ líquido.

3.4.7 ANÁLISE DE PERDA DE MASSA PARA MEMBRANAS

A percentagem de massa perdida das membranas PLLA-4, PLGA-1 e PLGA-3 durante o mesmo período estudado (60 dias) mostram que todas têm uma diminuição de massa logo após 15 dias de imersão em tampão fosfato, todavia a queda mais acentuada foi observada para as amostras de PLGA-1, como pode ser verificado na Figura 45.

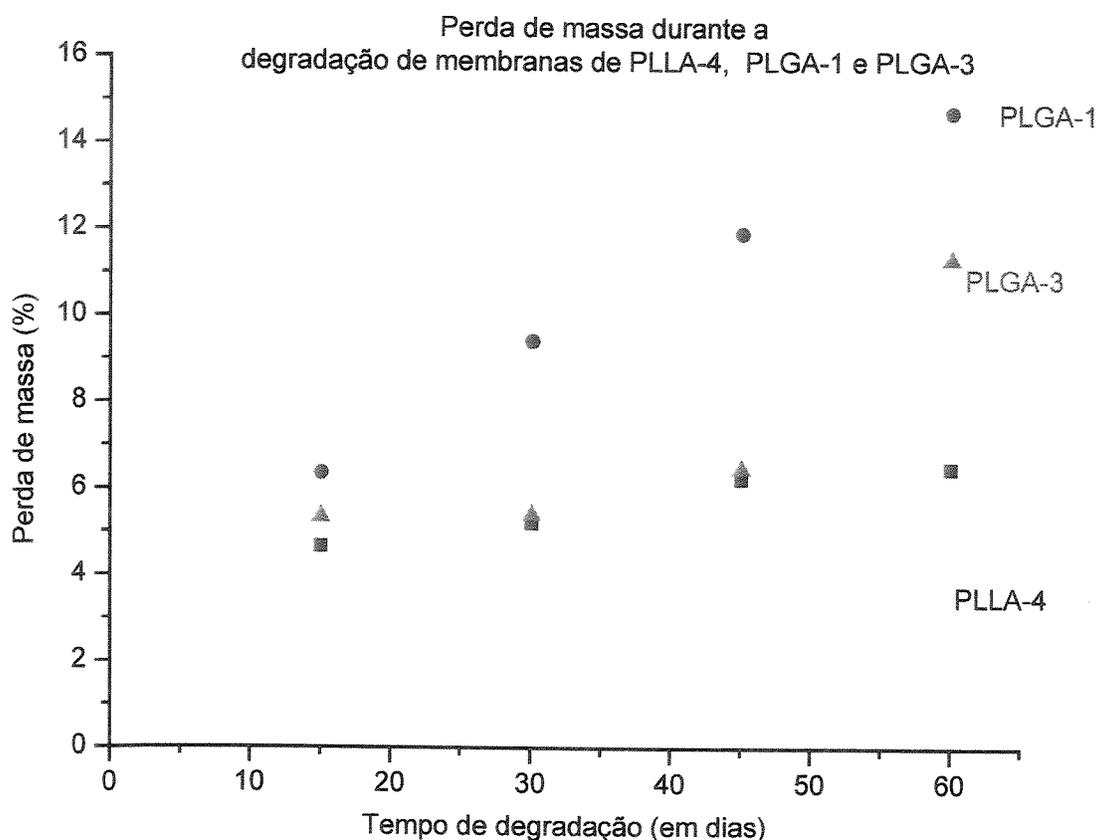


Figura 46- Perda de massa durante a degradação de membranas de PLLA-4, PLGA-1 e PLGA-3

Apesar da baixa cristalinidade tanto para o PLGA-1 como para o PLGA-3 foi observado pela técnica de DSC (Tabela 8) que, no caso do PLGA-3 a entalpia do pico de fusão é maior do que o do PLGA-1, que pode explicar, portanto, a menor perda de massa para um mesmo período de imersão em tampão fosfato das membranas de PLGA-3. Dessa forma, foi constatada a influência que o fator cristalinidade tem sobre a perda da massa nas membranas. Esse fator

cristalinidade também é uma das causas da menor perda de massa para as membranas de PLLA-4 comparadas às demais. O outro fator é que a hidrólise que essas membranas de PLLA-4 sofrem é menor comparada às membranas de PLGA, como já mencionado no item 1.6 do Capítulo-1.

CAPÍTULO 4

4.1 CONCLUSÕES

- Os resultados obtidos, para as sínteses do homopolímero PLLA foram reprodutíveis, mostrando que em todas as suas sínteses obteve-se material de alta massa molar ($M_w = 10^5$ g/mol), de acordo, portanto, com o descrito na literatura, quando a rota escolhida de síntese é a abertura do anel do ácido láctico, ou seja, lactide. Todos os PLLA sintetizados apresentaram elevada cristalinidade, comprovada por técnica de DSC; suas análises tanto de IV, como de RMN¹H e RMN¹³C apresentaram resultados de acordo com o relatado na literatura para o material, e por fim as micrografias obtidas pelo MEV atribuíram uma morfologia completamente densa ao material.

- No caso do copolímero, PLGA, os resultados também foram bastante satisfatórios, já que mostraram se tratar de um material de alta massa molar, também em torno de 10^5 g/mol. Foram realizadas sínteses na razão 80/20 (lactide/glicolide) e uma síntese na razão 50/50 (lactide/glicolide). Os resultados obtidos através das técnicas de IV e principalmente de RMN¹H e RMN¹³C se mostraram bastante coerentes com os dados disponíveis na literatura. A análise de RMN do PLGA 50/50 contribuiu em muito na interpretação dos espectros do copolímero PLGA 80/20, já que identificaram, através de diferenças na intensidade, alguns dos picos presentes nos espectros.

- Por fim, foi iniciado o estudo da degradação *in vitro* do homopolímero, PLLA, e do copolímero, PLGA, na forma de membranas. Através da técnica de DSC verificou-se o aumento do grau de cristalinidade para as membranas do homopolímero PLLA, com o avanço do tempo de imersão em tampão fosfato. No caso do copolímero verificou-se o surgimento da cristalinidade durante o processo de degradação, não sendo verificada diferença entre as membranas produzidas a partir de copolímeros de PLGA de diferentes massas molares ($M_w = 130000 \text{ g/mol}$ e $M_w = 283000 \text{ g/mol}$). Os dados de DSC mostraram que a partir de 60 dias de imersão em tampão fosfato o copolímero apresenta claros indícios do seu avançado estágio de degradação, como queda na T_g , enquanto o PLLA não mostra variações nos valores de suas transições térmicas até 120 dias de degradação.

- A estabilidade térmica, avaliada pela técnica de TGA, demonstrou que para as amostras correspondentes ao homopolímero PLLA não houve alteração significativa da temperatura de início de perda de massa, durante o período estudado, e para as membranas de PLGA, foi notada uma queda na temperatura de início de perda de massa a partir de 60 dias de imersão em tampão fosfato.

- A técnica de MEV só veio a confirmar microscopicamente a degradação mais acentuada das membranas de PLGA frente as membranas de PLLA, sendo constatado a partir de 60 dias uma total fragmentação da membrana do copolímero.

- A perda de massa feita com o acompanhamento de amostras de PLLA-4, PLGA-1 e PLGA-3 mostrou que todas estas apresentam logo a partir de 15 dias de imersão em tampão fosfato uma diminuição de massa, sendo verificado a queda mais acentuada nas amostras de PLGA-1, que são aquelas que possuem a mais baixa cristalinidade, quando comparadas às demais.

- Com relação à viabilidade de mercado, verificou-se uma diminuição de custo de aproximadamente 4-5 vezes na obtenção dos polímeros PLLA e PLGA, incluindo neste cálculo os custos de importação dos monômeros L-lactide e glycolide, bem como o custo associado às análises de caracterização através de GPC, RMN¹H e ¹³C, IV, DSC e MEV. Dessa forma, conclui-se que esta linha de pesquisa envolvendo síntese de polímeros bioreabsorvíveis é promissora, e sua continuidade significará uma acessibilidade do produto pelo mercado.

4.1 SUGESTÕES PARA PRÓXIMOS TRABALHOS

- Processamento e caracterização do material (PLLA e PLGA) na forma de placas e parafusos;
- Estudo “*in vivo*” na forma de membranas, placas e parafusos do PLLA e PLGA;
- Preparação do copolímero L-ácido láctico-co- DL- ácido láctico.

CAPÍTULO 5

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

ALI, S.A.M., DOHERTY, P.J., WILLIAMS, D.F. Mechanisms of polymer degradation in implantable devices, 2.Poly(DL- lactic acid). **Journal of Biomedical Materials Research**, v.27, p.1409-18, 1993.

AKESON, W.H.; WOO, S.L-Y; COUTTS, R.D.; MATTHEWS, J.V.;
GONSALVES,M.;Quantitative histological evaluation of early fracture healing of cortical bones immobilized by stainless steel and composite plates,**Calcif. Tissue Res.**, v.19, p.27-37, 1975.

•ATHANASION, K..A.; AGRAWAL, C.E.; BARBER F. ^a; BURKHART S.S.,Orthopaedic applications for PLA-PGA biodegradable polymer.**Arthrosc:J Arthrosc Relat Surg.**, v 14, n 7, p.726-37,1998.

•BARBER, FA; Resorbable fixation devices: a product guide **Orthopedic Special Edition**, 4, 1111-17,1998.

•BARROWS, T.H.;Degradable implant materials: a review of synthetic absorbable polymers and their applications.**Clin.Mater**, v1,p.233-57,1986.

BASSI, M.B.; PADIAS, A. B.; HALL, H. K.,**Polym. Bull.**,v.24, p.227, 1990.

•BENDIX, D.; “Chemical synthesis of polylactide and its copolymers for medical applications”, **Polymer degradation and stability**, 59, pg. 129-135,1998.

BLACK, C. M.; PALIESCHESKEY, M.; BEAMAN B. L.; Acidification of phagosomes in murine macrophages: blockage by Nocardia asteroids, **J. Infect Dis**, v.154, 6, p.952-8,1986.

•BOVEY F., **Nuclear magnetic resonance spectroscopy**, Academic Press, New York, pg.653, 1988.

•BOVEY, F.; **Chain structure and conformation of macromolecules**, Academic Press, New York, pg 259,1982.

•BRADLEY, G.W.; MACKENNA, G.B.; DUNN, H.K.; DANIELS, A.V. Effects of flexural rigidity of plates on bone healing. **Journal Bone Joint Surg.**,v. 61^A p.866-872, 1979.

CAROTHERS, W.H., DOROUGH, G.L., NATTA, F.J.V., Studies of polymerization and ring formation X The reversible polymerization of six- membered cyclic esters, **J.Am.Chem.Soc.**, 54,761,1932.

•CHU CC; A comparison of the effect of pH on the absorbable sutures, **Arch Surg**,v 195, p.55-59,1982.

•COHEN S.; ALONSO MJ.;LANGER R.; "Novel approaches to controlled-release antigen delivery" **Int. J. Technol Assessment Health Care** , 10(1), 121-30,1994.

•COHEN,J. and WULF, F,J.;Clinical failure caused by corrosion of a vitallium plate, **Journal Bone Joint Surg.Am.**;v 54,p 617,1972.

•COHEN,S.;ALONSO, M.J. and Langer,R.,Novel approaches to controlled-release antigen delivery.**Int.J.Technol. Assess. Health Care**, v.10, p.121-130, 1994.

•CUTRIGHT D.E., HUNSUCK E.E., BEASLEY J.D.,Fracture reduction using a biodegradable material, polylactic acid, **J.Oral Surg.**,29,393-397,1971

DOMB A. J., AMSELEM S., LANGER R., MANIAR M., **Polyanhydrides as carriers of drugs**. In: Shalaby SW, editor. Biomedical polymers Designed to degrade systems, New York, Hanser, p.69-96, 1994.

•DUBBIS, C.JACOBS, R. JEROME, Phd, Thesis, **Macromolecules**, 24, 2266,1991.

DUEK, A.R., ZAVAGLIA, C.A.C., BELANGERO, W.D. In vitro study of poly (lactic acid) pin degradation, **Polymer**, v.40, p.6465-73, 1999.

•DULBIS, C.; JACOBS, R.; JEROME, "Macromolecules", Thesis, 24, 2266, 1991.

•ENINK, M. J.; PHD Thesis Twente University, 1987.

GILDING, D.M.; REED, A.M., Biodegradable polymers for use in surgery-polyglycolic/poly (lactic acid) homo-and copolymers; 1 **Polymer**, 20, p.1459, 1979.

•GILDING, D.M.; REED, A.M.; "Biodegradable polymers for use in surgery. Poly(glycolic/poly(lactic acid) homo and copolymers" **Polymer**, 20, 2229-34, 1988.

•GIOLITO, I., Revista Química Industrial, vol 663, 12, 1988.

•GRIJPMAN, D.W.; NIJENHUIS, J.; PENNING, A.S.; "Synthesis and hydrolytic degradation behaviour of high-molecular-weight l-lactide and glycolide copolymers" **Polymer**, 31, 2201-2206, 1990.

•GRIJPMAN, D.W.; ZONDERVAN, G.J.; PENNING, A.J.; "High molecular weight copolymers of l-lactide and ε-caprolactone as biodegradable elastomeric implant materials" **Polymer Bulletin**, 25, pg.327-333, 1991.

•GUPTA, M.C. and DESHMUKH, V.G., Thermal oxidative degradation of poly-lactic acid Part I: Activation energy of thermal degradation, in air" **Colloid Polymer Sci.**, 260, pg 308-311, 1982.

•GUPTA, M.C.; DESHMUKH, V.G., Thermal oxidative degradation of poly-lactic acid Part II: Molecular and electronic spectra during isothermal heating. **Colloid Polymer Sci**, 260, pg. 514-517, 1982.

•HIEMENZ, P.C., **Polymer Chemistry**, New-York, p.423-504, 1984

•HILTUNEN, K.; HARKONEN, M.; SEPPALA, J.V.; VANANEN, T., Síntesis and characterization of lactic acid based telechelic prepolymers, **Macromolecules**, 29, pg.8677, 1996.

- HUMMEL,D.; Atlas of Polymer and Plastics analysis, 1, 7983,2001.

- HUNT,B.J.; JAMES,M.J., “Polymer Characterization”, Blackie Academic & Professional, pg.03,1997.

- HYON, S.H., JAMSHIDI,K.;IKADA Y., “Polymers as biomaterials”(Eds.S. W. Shalaby, A.S. Hoffman, B. D. Ratner and HORBETT), *Plenum Press*, New York, pg 51-56, 1984.

- HYON, S.H., JAMSHIDI,K.;IKADA Y., “Synthesis of polylactides with different molecular weights” *Biomaterials*, 18, pg 1503-1508,1997.

- IKADA Y.,Periodontium regenerierend Materialien S.Gen(G-C Dental Industrial Corp) Offenlegungsschrift DE, A1 date of filing , Aug. 1989.

- IONASHIRO, M.; GIOLITO, I., *Cerâmica*, vol 26, pg.17,1980.

- JAIN, RA.; The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co- glycolide) PLGA devices, ***Biomaterials***, 21,2475-2490,2000.

- JALIL R.; NIXON JR. Biodegradable poly(lactic acid) and poly(lactide-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparation techniques and release properties,***J. Microencapsulation***, v.7, p.297-325, 1990.

- JAMSHIDE, K.; HYON, SH.; IKADA, Y.;Thermal characterization of polylactides ***Polymer***,29,2229-34,1988.

- KASPERCZYK,J.; “Microstructural analysis of poly[(l-lactide) –co-(glycolide) by ¹H and ¹³C n.m.r. Spectroscopy”, ***Polymer***, v.37, p.201-203, 1996.

- KIRBY AJ. , BAMFORD CH., TIPPER CFH, **Hydrolysis and formation of esteres of organic acids.**, *Comprehensive Chemical Kinetics,-Ester Formation and hydrolysis and related reaction*, Amsterdam Elsevier, v 10, p.57-102,1972.

- KITCHELL,JP.; WISE, DL.; Poly(lactic/glycolic acid) biodegradable drug polymer matrix systems. *Methods Enzymol*, 112,436-48,1985.

- KOHN, F.E.;v.d. BERG, J.W.A.; V.D. RIDDER,G.; FEIJEN, J. ***J.Appl. Polym. Sci.***, v.29, p.4265, 1984.

• KOHN, J; LANGER, R.; Bioresorbable and bioerodible materials, **Biomaterials Science**. New York; Academic Press, 64-72, 1996.

KRICHELDORF, H.R.; SUMBÉL, M.V.; **Makromolek. Chem.**, v.189, 317, 1988.

• KRICHELDORF, H.R.; SUMBÉL, M.V.; KREISER-SAUNDER, I. **Macromolecules**, v.24, p.1944, 1991.

• KRICHELDORF, H.R.; SAUNDERS, K.; BOETTCHER, C.; "Polylactones: 18. Polymerization of *l*-lactide with Sn(II) and Sn(IV) halogenides" **Eur. Polymer J.**, 25, n°06, pg.585-591, 1989.

KRICHELDORF, H.R.; KREISER-SAUNDERS, I.; BOETTCHER, C.; Polylactones: 31. Sn(II) octoate-initiated polymerization of *l*-lactide: a mechanistic study, **Polymer**, v.36, p.1253, 1995.

• KULKARNI, R.K., PANI, K. C., NEUMAN, C.; LEONARD F., "Polylactid acid for surgical implants, **Arch. Surg.**, 93, pg. 839-843, 1966.

• LEENSLAG J. W., PENNING S AJ., BOS RRM., ROZEMA FR., BOERING G., *Resorbable materials of poly(l-lactide): VII. In vivo and in vitro degradation.* **Biomaterials**, v.8, p 70, 1987.

• LEWIS, DH.; **Controlled release of biologically active agents from lactide/glycolide polymers.** In: Chasen M.; Langer editors. **Biodegradable polymers as drug delivery systems.** New York: Marcel Dekker, 1-41, 1990.

LUCIANO, R. M.; ZAVAGLIA, C.A. C., DUEK, E. A R., Sintesis Y caracterization de membranas porosas de poli(ácido láctico), **Revista Información Tecnológica**, v.19, 5, p.115-118, 1998.

• MACHADO, LD.; **Curso de calorimetria exploratória diferencial(DSC) aplicada ao estudo de polímeros.** .IPEN/CNEN, 1999.

MANMINEM M.J. PAIVARINTHA U. PAITIALA H. ROKKANEN P. TAURIA R., TAMANMIMAKI M., TORMALA P., **J Mater Sci., Mater med.**, v.3 p.245, 1992.

• MEACHIM, G. and PEDLEY, R.B., The tissue response at implant sites, **Fundamental Aspects of biocompatibility**, vol.1, p. 107-144, USA, 1981.

• MEACHIM, G.; WILLIAMS, D.F., Changes in monosseous tissue adjacent sites, **J.Biomed. Mater.Res.**, 1981.

•MIDDLETON, John C.; TIPTON, Arthur J; Synthetic Biodegradable polymers as orthopedic devices, **Biomaterials**, v 20, p. 2335-2346, 2000.

•MORRISSON, R. T., BOYD, "*Química Orgânica*" 5ª edição, pg.482,1976.

NIJENHUIS, A J. GRIJPM, D. W., PENNING, A J., Lewis acid catalyzed polymerization of L- lactide: Kinetics and Mechanism of the Bulk polymerization, **Macromolecules**, v.25, p.6419-6424, 1992.

•NIJENHUIS, A.J., Thesis Synthesis and properties of lactide polymers, 1995.

•ODIAN, G.; Principles of polymerization, **Wiley Interscience**, 2ª edition, New York, 1981.

•PELOUZE, J. "*Liebigs Annalen der Chemie*", Über die Milchsäure, 53, pg.112-124, 1845.

•PENNING AJ., Knol K.E., Hoppen H.J., Leenslag J.W. van der Lei B., **Colloid Polymer, Sci**, v.2, p.268,1990.

PEREIRA, B.M.; ZAVAGLIA, C. A C.; DUEK, E. A R. Synthesis and characterization of poly(L- lactic acid)/poly(hydroxybutyrate) –co-(hydroxyvalerate) (PLLA/PHBV) Blends of different composition, **Journal Medical & Biological Engineering & Computing**, v.37, 2, p.216-217,1999.

•PIETRZAK, WS.; VERSTYNNEN BS.; SARVER, DR.; "*Bioabsorbable fixation devices: status for the craniomaxillofacial surgeon*". *J. Craniofacial Surg.*, 2,92-6,1997.

•PISTNER, Hans; GUTWALD, Ralf; ORDUNG, Robert; REUTHER, Jürgen. Poly(L-lactide): a long-term degradation study in vivo. **Biomaterials**, v 14, n°9, p.671-677, Nov.1992.

•RAGHUVANSHI RS; SINGH M.; TALWAR GP.; "*Biodegradable delivery system for single step immunization with tetanus toxoid*". *Int J Pharm*, 93, R1-5, 1993.

ROZEMA FR.; Bos RRm; BOERING G., **Biomaterials**, v.12, p.32, 1991.

•SCHALDACH, Max. Cardiologia cirúrgica perspectivas para o ano 2000, **Biomateriais**-Cap.03.

•SHALABY, SW; JOHNSON,RA.; “*Synthetic absorbable polyesters*”Biomedical Polymers. Designed to degrade sytems. New York: Hanser, 1-34,1994.

SHICH C., HIGUCHI T., HIMMELSTEIN K.J., Drug delivery from cattalysed erodible polymer matrices of poly(ortho esteres) **Biomaterials**, v 5, p.237-240,1984.

SMITH R.;OLIVER C.; WILLIAMS DF.; The enzyme degradation of polymers in vitro, **J. Biome Mater Res**, v 21, p.1149-1166, 1987.

•STEINHAUSER ^(a),E.,Unterkieffre-Konstrution durch intraorale Knochentrans-plantate, deren Eunheilung und Beeinflus-sung durch die Kunktion- Eine tierex perimentelle Studie,Teil1.**Schwiz Mschr Zanheilk**,v.78, p.213,1968.

•STEINHAUSER ^(b),E.,Unterkieffre-Konstrution durch intraorale Knochentrans-plantate, deren Eunheilung und Beeinflus-sung durch die Kunktion- Eine tierex perimentelle Studie,Teil2.**Schwiz Mschr Zanheilk**,v.78, p.375,1968.

•SUGANUMA J., ALEXANDER H., Biological response of intramedullary bone to poly(l-lactid acid),**J.Appl. Biomater**, v 4, p.13-27,1993.

SU MING, LI.; GARREAU, M.; VERT, M., Structure-property relationships in the case of the degradation of massive poly (α -hydroxy acids) in aqueous media Part2 Degradation of lactide-glycolide copolymers: PLA37.5GA25 and PLA75GA25, **Journal of Materials in Medicine**, 1 p.131-139,1990.

•THERIN M, CHRISTEL P., GARREAU H., VERT M., In vitro degradation of massive poly(alpha hydroxy acids): validation of in vitro findings. **Biomaterials**, v 13, p.594-600, 1992.

•THULL,R and SCHALDACH,M.,Physikalisch-chemische Apekte chrurgischer Metallimplantate, **Fotschritte der Kiefer-und Gesichts Churgie** ,Bd XIX (Ed.K.Schuchardt) p.56-59, Germany 1975.

•TICE,T; GILLEY. R.; MASON D.;FERRELL T.; STOAS J.; J. Site directed drug delivery with biodegradable microspheres. Proccedings of the International Conference on Advances in Controlled delivery, Baltimore, MD, 30-31,1996

•WEILER, W.; GOGOLEWOKI S., "Enhancement of the mechanical properties of polylactides by solid-state extrusion", *Biomaterials*, 17, pg 529-535, 1996.

•WOO, S. I.; KIM, B.O.; JUN, H.S.; CHANG, H.N., "Polymerization of aqueous lactic acid to prepare high molecular weight poly(lactic acid) by chain-extending with hexamethylene diisocyanate" *Polymer Bulletin*, 35, pg 415, 1995.

"Polylactones: 31 Sn(II)octoate-initiated polymerization of l-lactide: a mechanistic study", *Polymer*, 36, n°06, pg.1253-1259, 1995.

•PISTER H., BENDIX DR., MUEHLING J., REUTHER J.F., Poly (l-lactide): a long term degradation study in vivo. *Biomaterials*, v 14, p.291-8, 1993.

VERT M., SCHWACH G., COUDANE J., Presente and future of PLLA polymers, *J. Mater.Sc.Pure Appl. Chem.*, A-32, p.593-7, 1995.

• WU, X.S.;" Preparation characterization, and drug delivery applications of microspheres based on biodegradable lactic/glycolic acid polymer". In Wise et al.; editors. *Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering*. New York: Marcel Dekker, 1151-200, 1995.

ZISLIS T., MARTIN, S.A., CERBAS, E., HEATH JR. MANSFIELD JL, HOLLINGER J., O., A scanning electron microscopic study of in vitro toxicity of ethylene-oxide sterized bone repair materials, *J.Oral Implants*, v.25, p.41-6, 1989.

ZOPPI, R. A.; DUEK, E. A R.; MARQUES, F. R.; WADA, M. L.; NUNES, S. P. Porous poly(L-lactide) membranes obtained by immersion precipitation process, *Polymer*, v.40, p.3275-3289, 1999