

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Nanofibras poliméricas à base de Poli(ácido láctico) passíveis de modificação
via *Click Chemistry***

JÉSSICA SINDIANA PLETSCH

Orientadora: Profa. Dra. Rosane Michele Duarte Soares

Co-Orientador: Prof. Dr. Cesar Liberato Petzhold

Porto Alegre, Julho de 2015.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Nanofibras poliméricas à base de Poli(ácido láctico) passíveis de modificação
via *Click Chemistry***

JÉSSICA SINDIANA PLETSCH

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Química

Profa. Dra. Rosane Michele Duarte Soares
Orientadora

Prof. Dr. Cesar Liberato Petzhold
Co-Orientador

Porto Alegre, Julho de 2015.

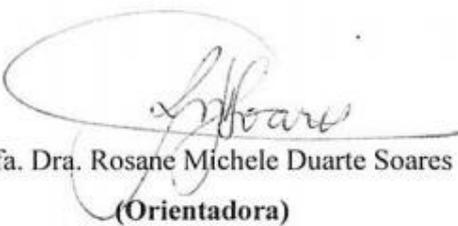
A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre março/2013 e julho/2015, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob Orientação da Professora Doutora Rosane Michele Duarte Soares e Co-orientação do Professor Doutor Cesar Liberato Petzhold. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Alexandre Gonçalves Dal-Bo


Prof. Dra. Fernanda Poletto


Prof. Dr. José Eduardo Damas Martins


Prof. Dra. Rosane Michele Duarte Soares
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Ver esse trabalho concluído e lembrar de todos que ajudaram para que ele se tornasse real agrega a tudo isso um valor que não pode ser medido, quantificado ou analisado. Torna ele menos científico e mais humano.

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha orientadora Rosane M. D. Soares, pelo aceite de minha orientação e por toda a ajuda prestada.

Ao meu co-orientador Cesar L. Petzhold por todo conhecimento compartilhado.

Aos meus pais, por me apoiarem, mesmo sem entender a minha ausência. Isso tudo é por vocês.

À minha amiga, quase orientadora, Nataly Siqueira. Acho que mereces mais que um “muito obrigada”... Tu merece um “parabéns”. Tua ajuda e pontualidade foram essenciais!

Um agradecimento especial à Ketlin Garcia, que foi quem me ensinou a usar o *electrospinning* e me ajudou sobreviver nesse período.

Ao Demétrius Lima, pela amizade.

Agradeço às minhas colegas de trabalho Graziela Martins e Marina Laranjo, e a querida Anna Rita, que me deram todo suporte para conseguir conciliar o trabalho e o mestrado.

Agradeço aos colegas dos laboratórios K102 e K215, por toda ajuda prestada, em especial à Andressa, que foi essencial nas discussões iniciais deste presente trabalho e com quem dividi muitas (boas) horas de trabalho. Agradeço também a Luana Poletto Barbieri pelo auxílio nas longas horas de eletrofição.

Agradeço ao professor Fabiano Severo Rodembusch ao colega Mauro Safir, pelo auxílio nas análises de UV-Vis e Fluorescência.

À técnica Fabiana Grosser pelas análises de GPC.

Ao técnico Júlio César P. Vagheti e à equipe do LAMAT, pelas análises de TGA.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABELAS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
RESUMO.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 POLI(ÁCIDO LÁTICO).....	3
2.2 OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS ATRAVÉS DE ELETROFIAÇÃO.....	9
2.3 <i>REAÇÕES CLICK CHEMISTRY</i>	13
2.3.2 Aplicação de materiais modificados por <i>Click Chemistry</i> em Ciência dos Materiais.....	18
2.4 REAÇÃO <i>CLICK</i> EM NANOFIBRAS OBTIDAS POR ELETROFIAÇÃO....	19
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 OBJETIVO GERAL.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	23
4.2 POLIMERIZAÇÃO DO LACTIDEO POR ABERTURA DE ANEL (ROP) ...	23
4.3 SÍNTESE DA 3-AZIDO-1-PROPANOL.....	25
4.4 SÍNTESE DA AZIDO-RODAMINA-B (ROD-N ₃).....	26
4.5 OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE BLENDS DE PLA_AM/PLA_ALC ..	27

4.6	QUANTIFICAÇÃO DE GRUPO FUNCIONAL NA SUPERFÍCIE DA NANOFIBRA.....	27
4.7	EQUIPAMENTOS E CONDIÇÕES DE ANÁLISES	29
4.7.1	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio: RMN ¹ H e RMN ¹³ C..	29
4.7.2	Cromatografia de Permeação em Gel: GPC.....	29
4.7.3	Análise Termogravimétrica: TGA.....	29
4.7.4	Calorimetria Exploratória Diferencial: DSC	30
4.7.5	Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho: IV	30
4.7.6	Microscopia Eletrônica de Varredura: MEV.....	31
4.7.7	Viscosidade	31
4.7.8	Espectroscopia na região do ultravioleta-visível - UV-Vis.....	31
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1	POLIMERIZAÇÃO POR ABERTURA DE ANEL.....	32
5.2	NANOFIBRAS DE PLA E SUAS BLENDS	40
5.3	ANÁLISE DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS POLÍMEROS E NANOFIBRAS	45
5.4	SÍNTESE DE RODAMINA-B FUNCIONALIZADA COM GRUPO FUNCIONAL AZIDA	52
5.4.1	3-azido-1-propanol	53
5.4.2	Rodamina-B funcionalizada com azida.....	55
5.5	QUANTIFICAÇÃO DOS GRUPOS FUNCIONAIS ATIVOS NA NANOFIBRA.....	58
6.	CONCLUSÕES	66
8.	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	68
	ANEXO 1: ESPECTROS DE RESSONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO DOS REAGENTES UTILIZADOS	71
	ANEXO 2: MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS NANOFIBRAS OBTIDAS	72

**ANEXO 3: ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR
DE CARBONO RELATIVAS A MODIFICAÇÃO DA RODAMINA
B 74**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do monômero ácido láctico, dímero lactídeo e polímero poli(ácido láctico) ou poli(lactídeo).	3
Figura 2: bis-(2-etil-hexanoato) de estanho (II) (Sn(Oct) ₂), adaptado de Garlotta ⁹	6
Figura 3: Mecanismo de coordenação-inserção proposto para a polimerização por abertura de anel do lactídeo, adaptado de Dorff e colaboradores ¹⁴ e Gupta e Kumar ⁸	7
Figura 4: Relação entre número de publicações relacionadas ao tema “ <i>nanofibers</i> ” e “ <i>electrospinning</i> ” no período de 2001 – 2015. Dados obtidos em junho de 2015, na base de dados <i>Scifinder</i>	9
Figura 5: Configuração do equipamento para eletrofiação. a) aparelhagem de eletrofiação com os 3 componentes básicos e b) o que acontece com a solução polimérica durante o processo de eletrofiação. Figura adaptada de Ke e colaboradores. ²⁰	10
Figura 6: Classificação geral das reações do tipo Click Chemistry, com exemplo. Adaptado de Hein et al. ³³	14
Figura 7: 1,2,3-triazóis 1,4 e 1,5-dissubstituídos obtidos pela cicloadição 1,3-dipolar, adaptado de Xi e colaboradores. ³¹	15
Figura 8: Dibenzociclooctinol, alcino cíclico amplamente utilizado para SPAAC. ³⁴⁻³⁵	16
Figura 9: Mecanismo proposto para a cicloadição 1,3-dipolar entre azida e alcino catalisada por Cu (I) (CuAAC), onde L é um ligante. Adaptado de Hein e colaboradores. ³³	17
Figura 10: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de uma reação de polimerização em andamento, no qual são visualizados os picos relativos ao lactídeo.	34
Figura 11: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do polímero sintetizado, evidenciando os sinais utilizados para os cálculos.	35
Figura 12: Termograma de DSC para o polímero PLA_alc.	39
Figura 13: Micrografia obtida por MEV para a nanofibra de F_10/0.	41
Figura 14: Micrografias obtidas por MEV para as amostras F_10/0, F_9/3, F_9/10 e F_10/10(esquerda) e histograma com distribuição dos diâmetros de fibras (direita).	43
Figura 15: Micrografia da nanofibra F_9/3.	44
Figura 16: Termogramas de DSC (primeiro ciclo de aquecimento) para as amostras para a amostra de PLA_am e nanofibras em diferentes composições.	49
Figura 17: Termograma de DSC referente ao segundo aquecimento das amostras de PLA_am e nanofibras.	51

Figura 18: Estrutura química da Rodamina-B.....	53
Figura 19: Reação de substituição para obtenção de 3-azido-propanol.	54
Figura 20: Espectro de RMN ¹ H do composto 3-azido-1-propanol (400 MHz, CDCl ₃).	54
Figura 21: Reação de esterificação entre Rodamina B e 3-azido-propanol, catalisada por DMAP e auxiliada por DCC ou EDC.	55
Figura 22: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) obtido para a ROD-N ₃ obtida pela metodologia Rod-02.....	56
Figura 23: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr da ROD-N ₃ . No espectro, encontra-se indicado com uma seta a banda referente ao grupo azida.	57
Figura 24: Espectro de absorção e emissão para a ROD-N ₃	58
Figura 25: Possibilidades de localização dos grupos funcionais alcino após eletrofiação. Na imagem à esquerda, completamente expostos ao exterior, e à direita, completamente no interior da fibra.....	59
Figura 26: Polarização induzida pela voltagem aplicada durante o processo de eletrofiação, ocasionando segregação de grupos funcionais polarizáveis no “corpo” da nanofibra obtida. Adaptada de Lancuški e colaboradores ⁴²	60
Figura 27: Curva de calibração que relaciona a absorbância de uma solução de THF com a concentração de corante ROD-N ₃	62
Figura 28: Espectro de RMN ¹ H para o álcool propargílico utilizado como iniciador nas reações de polimerização por abertura de anel.	71
Figura 29: Espectro de RMN ¹ H para o lactídeo após recristalização em tolueno.....	71
Figura 30: Fotomicrografias das nanofibras obtidas das composições: 1) F_10/0; 2) F_9/3; 3) F_9/10 e 4). F_10/10. Os índices a) e b) se referem as magnificações obtidas nas imagens, relativas a 500 e 3000 vezes, respectivamente.	73
Figura 31: Espectro de RMN ¹³ C para o composto 3-azido-1-propanol.....	74
Figura 32: Espectro de RMN ¹³ C para ROD-N ₃	74

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I: Propriedades físicas e químicas do PLA, adaptado de Xiao e colaboradores. ⁶	4
Tabela II: Condições reacionais empregadas para as reações de polimerização por abertura de anel do lactídeo.	24
Tabela III: Condições experimentais variáveis para a click entre a nanofibra funcionalizada com alcino e o corante ROD-N ₃	28
Tabela IV: Reações de polimerização realizadas com as respectivas condições experimentais.	33
Tabela V: Percentual de conversão para a ROP do lactídeo e relação da massa molar média (g/mol) com o tempo reacional para as polimerizações realizadas.....	36
Tabela VI: Resultados para rendimento mássico, massa molar obtida por RMN ¹ H e GPC, polidispersividade (PDI) e grau de modificação terminal obtido para as reações de polimerização.	37
Tabela VII: Formulação das soluções de PLA _{am} /PLA _{alc} para eletrofiação.	40
Tabela VIII: Condições de eletrofiação estabelecidas experimentalmente para as soluções de PLA _{am} /PLA _{alc}	40
Tabela IX: Viscosidade das soluções de PLA _{am} /PLA _{alc}	43
Tabela X: Diâmetro médio obtido para as nanofibras.....	45
Tabela XI: Dados de análise térmica (TGA) para o polímero puro e as nanofibras obtidas no processo de eletrofiação.	47
Tabela XII: Entalpias de cristalização (ΔH_c) e fusão (ΔH_f) referentes ao primeiro ciclo de aquecimento das nanofibras de PLA.....	50
Tabela XIII: Temperatura de transição vítrea, cristalização e fusão para o primeiro e segundo ciclo de aquecimento das amostras de PLA _{am} , PLA _{alc} e suas blendas.....	52
Tabela XIV: Resultados obtidos para os testes de otimização das condições reacionais para a reação CuAAC entre PLA _{alc} e ROD-N ₃	63
Tabela XV: Resultados obtidos para a funcionalização via CuAAC das nanofibras modificadas pela metodologia RF ₂	64

LISTA DE ABREVIATURAS

PLA - Poli(ácido láctico)

PLA_{am} - PLA da marca PURAC de alta massa molar

PLA_{alc} - PLA de baixa massa molar, funcionalizado terminalmente por um grupo funcional propargil.

CuAAC - Cicloadição de Huisgen entre azida e alcino catalisada por Cu(I)

F_{10/0} - Nanofibra com 100 de PLA_{am} e 0 % de PLA_{alc}, em massa

F_{9/3} - Nanofibra com 75 % de PLA_{am} e 25 % de PLA_{alc}, em massa

F_{9/10} - Nanofibra com 48 % de PLA_{am} e 52 % de PLA_{alc}, em massa

F_{10/10} - Nanofibra com 50 % de PLA_{am} e 50 % de PLA_{alc}, em massa

RF_{PLA_{am}/PLA_{alc}} - Reação de funcionalização da fibra via CuAAC

Sn(Oct)₂ – bis-(2-etil-hexanoato) de estanho (II)

ROP - Polimerização por abertura de anel (ring opening polymerization)

Sn/OH - Razão catalisador/iniciador para as reações de ROP

ROD-N₃ - Rodamina-B funcionalizada através de reação de esterificação com álcool 3-azido-1-propanol

DCC - Dicicloexilcarbodiimida

DMAP - 4-dimetilaminopiridina

RMN ¹H - Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio

RMN ¹³C - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

GPC - Cromatografia de Permeação em Gel

DSC - Calorimetria Exploratória Diferencial

TGA - Análise Termogravimétrica

IV - Espectroscopia Vibracional na Região do Infra-Vermelho

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

PDI – Polidispersividade

UV-Vis – Espectroscopia na região do ultravioleta-visível

T_g - Temperatura de transição vítrea

T_m - Temperatura de fusão cristalina

T_c - Temperatura de cristalização

M_n_GPC - Massa molar ponderal média calculada por GPC

M_n_RMN_¹H - Massa molar ponderal média de PLA calculada por RMN

RESUMO

Nesse trabalho estudou-se nanofibras poliméricas à base de poli(ácido láctico) (PLA) funcionalizadas superficialmente por reação do tipo Cicloadição de Huisgen entre Azida e Alcino Catalisada por Cu (I) (do inglês, *Copper(I)-Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition - CuAAC*). Sintetizou-se por polimerização por abertura de anel o polímero PLA de baixa massa molar terminalmente funcionalizado com grupo propargila, utilizando como iniciador álcool propargílico ($M_n\text{-RMN-}^1\text{H} = 2500 \text{ g/mol}$, $M_n\text{-GPC} = 5000 \text{ g/mol}$ e % de funcionalização de 75 %). As nanofibras poliméricas foram obtidas através do método de eletrofiação, utilizando soluções de PLA de alta massa molar comercial e PLA funcionalizado em solvente CH_2Cl_2 (10/0, 9/3, 9/10 e 10/10 % m/m). As nanofibras poliméricas foram caracterizadas através das técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por análises térmicas (termogravimetria, TGA, e calorimetria exploratória diferencial, DSC), apresentando diâmetro pouco variável, superfície porosa e comportamento não cristalino após eletrofiação.

A reatividade do grupo alcino na superfície foi avaliada pela reação CuAAC com Rodamina B funcionalizada com grupo azida (ROD- N_3), o que permitiu a quantificação dos grupos reativos por meio de medidas de UV-Vis. As nanofibras apresentaram um percentual de modificação superficial de 4,5 %. Sendo assim, os materiais obtidos nesse trabalho são capazes de serem modificados superficialmente através de reações CuAAC.

ABSTRACT

In the present work poly (lactic acid) (PLA) nanofibers functionalized by Copper (I) Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition (CuAAC) were investigated. The PLA with low molecular weight was synthesized and terminally functionalized with alkyne group by ring opening polymerization (ROP) using propargyl alcohol as initiator. The polymeric nanofibers were obtained by electrospinning using commercial high molecular weight PLA and previously synthesized PLA solutions using CH₂Cl₂ as solvent (10/0, 9/3, 9/10 and 10/10 % w/w). Polymeric nanofibers were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and thermal analysis (thermogravimetry, TGA, and differential scanning calorimetry, DSC), showing non-variable diameter, porous surface and non-crystalline behavior after electrospinning.

The reactivity of alkyne group on the nanofiber surface was evaluated by reaction with Rhodamine B modified with azide group (ROD-N₃), which allowed the quantification of reactive alkyne groups on the surface by UV-Vis measurements. The efficiency of click reaction on nanofibers surface was 4.5 %. Thus, the materials developed in this study were capable of being modified by CuAAC surface reactions.

1. INTRODUÇÃO

Polímeros biodegradáveis, biorreabsorvíveis e biocompatíveis vêm ganhando muito espaço no meio acadêmico devido à grande potencialidade de aplicações. A adequação das propriedades do material polimérico para a finalidade a qual se destina é um dos principais desafios para a utilização de muitos polímeros, que muitas vezes necessitam de ajustes para melhoramento de suas propriedades físicas ou químicas.

O poli(ácido lático) (PLA) é um poliéster alifático, que pode ser obtido de fontes renováveis tais como milho e beterraba, e um exemplo de polímero biodegradável, biocompatível e biorreabsorvível que é aceito pelo Food and Drug Administration (FDA) para aplicações na área biomédica. Entretanto, esse polímero é altamente hidrofóbico, o que torna sua utilização em meio fisiológico dificultada, pois apresenta baixa afinidade celular. A modificação no grau de hidrofobicidade ampliaria a potencialidade desse polímero para utilização na área biomédica, por permitir uma maior interação do material com o ambiente fisiológico, maior afinidade com biomoléculas (geralmente hidrofílicas) e proporcionar um ambiente mais propício para o crescimento celular. Outro fato importante com relação ao PLA é a relativa falta de grupos funcionais reativos na sua estrutura, o que torna a sua funcionalização uma etapa criteriosa.

A modificação da superfície de um material em escala submicrométrica ou nanométrica possibilitaria a alteração da sua interação com o meio, o que é interessante em aplicações interfaciais. No entanto, os métodos mais conhecidos para a funcionalização de superfície, como tratamento por plasma e *casting*, podem ser agressivos, levando à decomposição do material, ou serem exaustivos, demandando longos tempos de tratamento. Sendo assim, novos métodos vêm sendo estudados como alternativas de modificação, que aliem funcionalização efetiva e praticidade.

Um método que vem apresentando resultados interessantes, mostrando-se rápido e eficiente, é a funcionalização via *Click Chemistry*. Reações desse tipo são descritas como tendo elevado rendimento, sendo estereoespecíficas e de fácil purificação, tendo necessidade de tempos reacionais moderados e temperaturas baixas, não sendo caracterizadas por um único tipo de mecanismo. Dentre as reações *Click Chemistry*, a que se mostra mais interessante é a Cicloadição 1,3-dipolar entre Azida e Alcino Catalisada por Cu (I) (CuAAC), devido às possibilidades que ela vem apresentando para funcionalizar biomateriais e superfícies, na

realização de reações covalentes em organismos vivos e na construção de macromoléculas através de pequenas moléculas com grupos funcionais adequados, mostrando-se uma reação versátil. Neste sentido, como método de modificação de superfície, mostra-se uma alternativa pouco agressiva, pois envolve reações químicas em condições brandas, e de fácil aplicação. A utilização dessa reação em nanofibras é uma área de estudos nova e pouco tem sido investigado até o momento, tratando-se de um estudo promissor e desafiador.

Dessa forma, a proposta deste trabalho é modificar a superfície de nanofibras poliméricas de PLA através de reação de Cicloadição entre Azida e Alcino catalisada por Cu (I).

O grande diferencial do material desenvolvido é a ampla aplicação que a matriz polimérica pode ter após a reação de modificação, pois a propriedade química da superfície será facilmente modulada, facilitando, por exemplo, a reação com biomoléculas com maior afinidade celular ou maior hidrofiliabilidade.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 POLI(ÁCIDO LÁTICO)

O poli(ácido láctico), ou PLA, é o poliéster derivado do ácido láctico, sendo por isso classificado como um biopolímero.¹ Foi descoberto por Carothers, pela polimerização do lactídeo (3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona, dímero cíclico do ácido láctico, Figura 1) sob vácuo, obtendo-se polímero com massa molar de cerca de 3000 g/mol, por reação com 2 horas de duração e temperatura de 250 – 275 °C. Carothers também descreveu que, na presença de carbonato de potássio, a reação ocorria a temperatura de 140 – 150 °C.² Em 1954, Du Pont produziu e patenteou um polímero PLA de alta massa molar.³

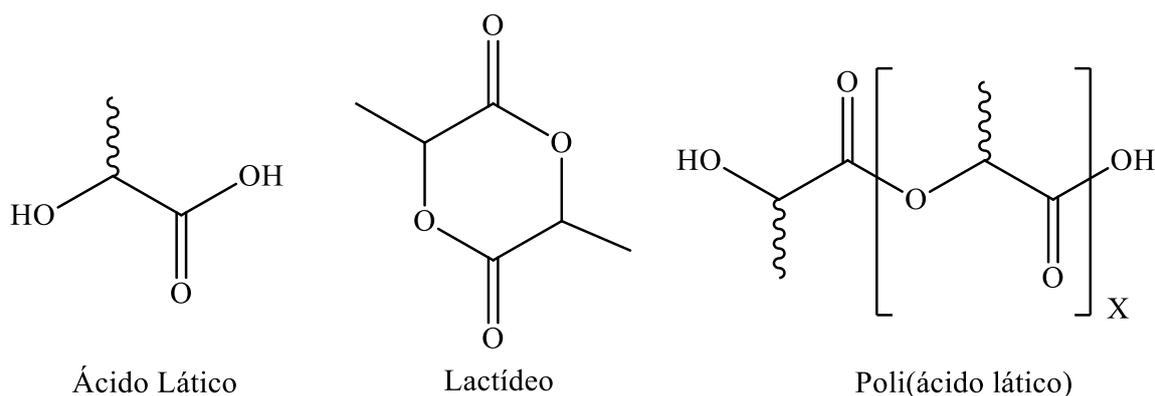


Figura 1: Estrutura química do monômero ácido láctico, dímero lactídeo e polímero poli(ácido láctico) ou poli(lactídeo).

Como pode ser visto na Figura 1, o ácido láctico (ácido 2-hidróxi-propanóico) apresenta centro quiral, ou seja, pode apresentar-se na forma do estereoisômero D(-) e L(+). Esses dois isômeros de ácido láctico podem dar origem a quatro diferentes materiais com cadeias regulares: poli(D-ácido láctico) (PDLA); poli(L-ácido láctico) (PLLA); poli(D,L-ácido láctico) (PDLLA) e *meso*-PLA, obtido pela polimerização do *meso*-lactídeo.⁴ O isômero L é um metabólito biológico e constituinte da maior fração dos PLA provenientes de fontes renováveis, uma vez que a maior parte do ácido láctico de fontes biológicas ocorre nessa forma isomérica.⁵ As propriedades específicas do PLA estão intimamente ligadas à conformação do centro quiral⁴, e alguns exemplos estão exemplificados na tabela I.

Tabela I: Propriedades físicas e químicas do PLA, adaptado de Xiao e colaboradores.⁶

Propriedade	PDLA	PLLA	PDLLA
Solubilidade	Solúveis em benzeno, clorofórmio, acetonitrila, tetrahidrofurano, dioxano, etc, e insolúveis e etanol, metanol e em hidrocarbonetos		
Estrutura cristalina	cristalino	semicristalino	amorfo
Temperatura de fusão, T_m (°C)	~180	~180	variável
Temperatura de transição vítrea, T_g (°C)	50 - 60	55 - 60	variável
Temperatura de decomposição (°C)	~200	~200	185 - 200
Tempo de meia vida em ambiente salino	4 – 6 meses	4 – 6 meses	2 – 3 meses

Rasal e colaboradores⁷ enumeraram as principais vantagens e desvantagens que o PLA apresenta:

Vantagens:

- I. Polímero *Eco-Friendly*: Além de ser proveniente de fontes renováveis, o PLA é um polímero biodegradável, compostável e reciclável. O PLA degrada por simples hidrólise, não dependendo de catálise enzimática. Os produtos de degradação são não tóxicos a organismos vivos, pois ocorrem naturalmente em ambiente fisiológico.⁸
- II. Biocompatibilidade: Para um material ser biocompatível ele não deve levar a produtos tóxicos ou que sejam rejeitados pelo organismo. A hidrólise do PLA resulta em seus constituintes hidróxi-ácidos, sendo metabolizado e excretado. Além disso, o FDA (*Food and Drug Administration*) aprova a utilização desse polímero⁹ em contato com fluidos biológicos⁷.

- III. Processabilidade: PLA possui melhor processabilidade sob diferentes condições térmicas do que outros biopolímeros, como o polietilenoglicol e policaprolactona. Além disso, PLA tem elevado módulo termoplástico, podendo ser facilmente processado por métodos convencionais usados para termoplásticos.⁸
- IV. Economia energética: A produção de PLA consome 25-30% da energia necessária para a produção de polímeros de fonte petroquímica.

Desvantagens:

- I. Baixa dureza: PLA é um polímero quebradiço, com menos de 10% de alongação. A baixa dureza limita o uso do polímero para aplicações que necessitem de deformação plástica com elevado grau de tensão.
- II. Taxa de degradação variável: A degradação depende da cristalinidade, massa molar, distribuição de massa molar, morfologia, entre outros fatores.
- III. Hidrofobicidade: A cadeia de PLA é naturalmente hidrofóbica. A hidrofobicidade resulta em baixa afinidade celular para esse polímero.
- IV. Deficiência de grupos reativos na cadeia polimérica: PLA é um polímero relativamente inerte, sem grupos funcionais laterais que possibilitem a funcionalização, dificultando a modificação de suas propriedades.

Essa última desvantagem listada talvez seja a mais importante, pois limita a manipulação de propriedades químicas e físicas de materiais à base de PLA. Modificações estruturais nesse polímero são investigações interessantes para avaliar diferentes maneiras de gerar funcionalidade nos materiais compostos por PLA.

O PLA pode ser obtido a partir de diferentes métodos. A partir do monômero (ácido láctico), pode-se obter o polímero por policondensação ou por condensação em solução azeotrópica. Além disso, partindo-se do lactídeo (dímero cíclico), pode-se obter o PLA a partir da polimerização por abertura de anel (*Ring Opening Polymerization* – ROP). Através de métodos como policondensação, não se obtém polímeros de elevada massa molar uma vez que a reação necessita da remoção da água gerada para que ocorra o crescimento da cadeia. Já por

abertura de anel, onde a reação inicia a partir do dímero cíclico, não há a necessidade da retirada de água, possibilitando a obtenção de polímero com massa molar elevada.^{3,5,10} O termo poli(lactídeo) é geralmente empregado para os polímeros obtido por ROP.⁴

A polimerização do lactídeo pode se dar por mecanismo aniônico, catiônico ou por coordenação-inserção, dependendo do catalisador utilizado. Os fatores que afetam o polímero final são a concentração de catalisador, a temperatura e o tempo de reação.⁴ Gupta e Kumar⁸ listam 110 catalisadores para polimerização de lactídeo entre os 3 possíveis mecanismos de reação. No entanto, destacam o uso do catalisador bis-(2-etil-hexanoato) de estanho (II) ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) (Figura 2) como o mais promissor para a obtenção de polímero de alta massa molar e, portanto, o mais utilizado.

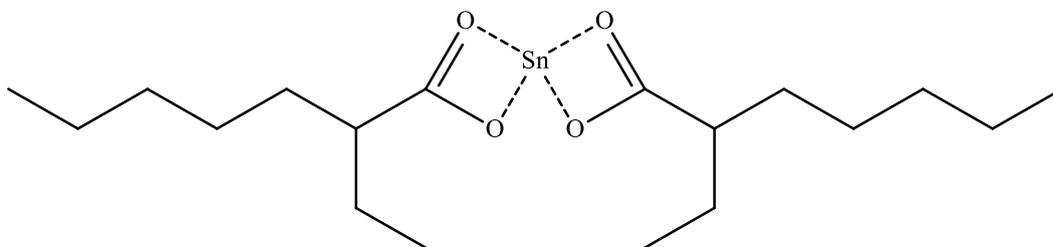


Figura 2: bis-(2-etil-hexanoato) de estanho (II) ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$), adaptado de Garlotta⁹.

Ao utilizar o catalisador de estanho, a reação irá ocorrer via mecanismo de coordenação-inserção. É importante salientar que não é a espécie $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ quem inicia a polimerização, mas sim o produto da reação deste com o co-iniciador (um álcool ou uma amina primária). Ou seja, grupos $-\text{SnOR}$ or $-\text{SnNHR}$ são os iniciadores da polimerização.¹⁰⁻¹²

Nesse mecanismo, a primeira etapa ocorre quando oxigênios exocíclicos do lactídeo se tornam temporariamente coordenados ao centro metálico. Essa coordenação aumenta a nucleofilicidade da parcela alcóxido do iniciador e, conseqüentemente, aumenta a eletrofilicidade do grupo carbonila do lactídeo. Na segunda etapa, a ligação entre grupo carbonila e oxigênio endocíclico do lactídeo é rompida e a cadeia é produzida. A polimerização continua com a abertura de moléculas de lactídeo, enquanto o alcóxido proveniente do iniciador se torna o terminal de cadeia.⁸

É aceito que a etapa determinante desse mecanismo é o ataque nucleofílico do alcoóxido ao carbono carbonílico do monômero.¹³ O mecanismo da polimerização por abertura de anel utilizando catalisador de Sn está ilustrado na Figura 3.

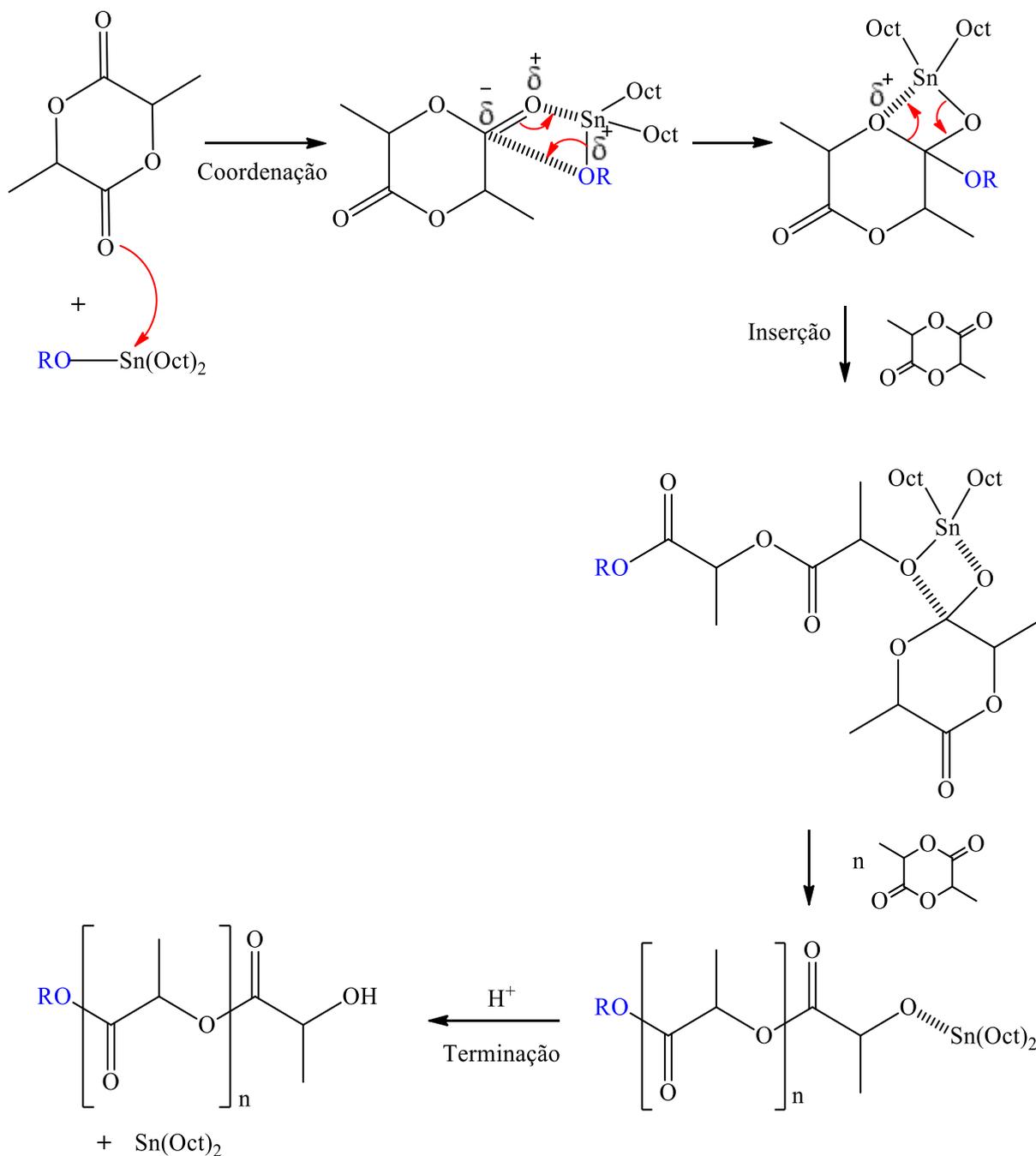


Figura 3: Mecanismo de coordenação-inserção proposto para a polimerização por abertura de anel do lactídeo, adaptado de Dorff e colaboradores¹⁴ e Gupta e Kumar⁸.

A interação da superfície do polímero com outros materiais ou meios é um importante fator que afeta a sua aplicação.⁷ Como ressaltado anteriormente, a deficiência de grupos funcionais torna o PLA, assim como outros poliésteres (ex. poli(caprolactona), PCL), relativamente inertes⁷. A modificação da superfície do material polimérico pode alterar a aplicação do mesmo, uma vez que as características de superfície são críticas para a afinidade e adesão celular, além de alterarem a energia superficial e a morfologia. Para melhorar a aplicabilidade do polímero, métodos como recobrimento de superfície, modificação química e tratamento com plasma são empregados.¹⁵

Pelo método de recobrimento de superfície (*coating*), obtém-se uma interface “adesiva” entre a superfície e o material com o qual se quer modificá-la, formando um “filme” sobre o material de superfície, sendo esse o método mais simples de modificação. O método pode ser bastante efetivo, porém apresenta desvantagens com relação ao tempo necessário para o recobrimento e custos, além do mais, a adsorção passiva pode induzir a adsorção competitiva com outras moléculas, obtendo-se um efeito de recobrimento indesejado.¹⁵

Com relação ao método de modificação química, pode-se citar como o mais comum o tratamento por hidrólise alcalina. Após a hidrólise, grupos hidrofílicos (carboxil e hidroxil) são obtidos pela clivagem da ligação éster do polímero. Geralmente, o tratamento por hidrólise alcalina se dá utilizando mistura NaOH/etanol¹⁶. O etanol assiste o ataque nucleofílico da hidroxila à ligação éster. A concentração de NaOH é que irá determinar se o tratamento levará ou não à degradação do material.¹⁵

O tratamento por plasma possui a vantagem de ser um tratamento que permite a modificação da superfície mesmo em materiais com morfologia complexa, sem alterar as propriedades do *bulk*.¹⁷ O tratamento é feito em vácuo, e as características do tratamento são modificadas dependendo do tipo de gás utilizado (ex. amônia). O tratamento possui a desvantagem de não permitir tratamento térmico, pois a modificação não se mantém com o aumento da temperatura. Em alguns casos, o tratamento pode ocasionar degradação da camada superficial do material em questão.¹⁵

Os métodos de modificação anteriormente citados apresentam desvantagens que limitam sua aplicação, como os elevados tempos reacionais que se fazem necessários ou o elevado grau de agressividade para a matriz. Isso vem motivando o estudo de novos métodos que permitam a derivatização de poliésteres alifáticos e a utilização de reações do tipo *Click Chemistry* como uma ferramenta para esse fim, a qual permite a funcionalização sob condições

brandas sem a necessidade da utilização de etapas de proteção e desproteção, permitindo a reação dos mais variados grupos funcionais.¹⁸ O assunto será abordado em mais detalhes na sessão 2.4.

2.2 OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS ATRAVÉS DE ELETROFIAÇÃO

Eletrofiação é uma técnica empregada para a obtenção de fibras de dimensões em escalas micrométricas e submicrométricas, que possuem grande interesse industrial e científico devido ao grande comprimento, pequeno diâmetro e elevada área superficial por volume.¹⁹ Com o passar dos anos, o interesse por materiais obtidos através dessa técnica vem crescendo, o que pode ser comprovado pelo gráfico apresentado na Figura 4, que traz informações do número de publicações científicas relacionadas às palavras “*nanofibers*” e “*electrospinning*” nos últimos 15 anos.

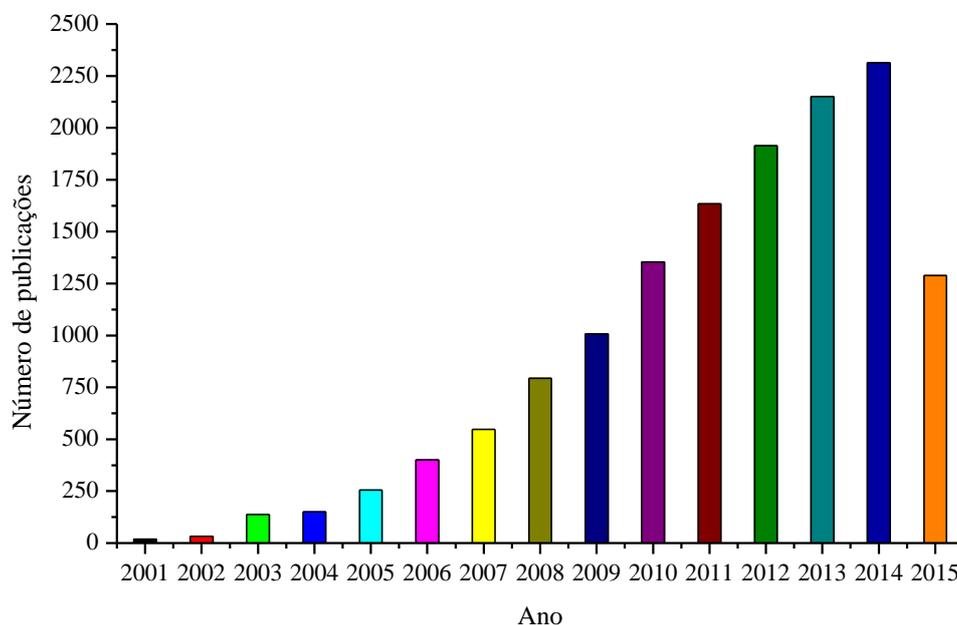


Figura 4: Relação entre número de publicações relacionadas ao tema “*nanofibers*” e “*electrospinning*” no período de 2001 – 2015. Dados obtidos em junho de 2015, na base de dados *Scifinder*.

A aparelhagem para a eletrofição consiste de 3 elementos básicos, como ilustrado na Figura 5a: fonte de alta tensão, seringa com agulha e um coletor aterrado. Um eletrodo da fonte de alta voltagem é conectado à agulha da seringa que contém a solução a ser eletrofiada, e o outro eletrodo é conectado ao coletor aterrado. O processo de eletrofição ocorre quando a voltagem aplicada no sistema é suficiente para romper a tensão superficial dos polímeros em solução, e assim, dando origem a um jato carregado que será formado a partir da ponta da agulha²⁰⁻²¹ (Figura 5b). O jato gerado inicialmente é estável, porém logo chega a um estágio onde o jato polimérico sofre estiramento devido às forças eletrostáticas que atuam à medida que o solvente evapora (zonas de instabilidade). Ao final desse processo, a fibra é depositada no coletor de forma aleatória.²⁰

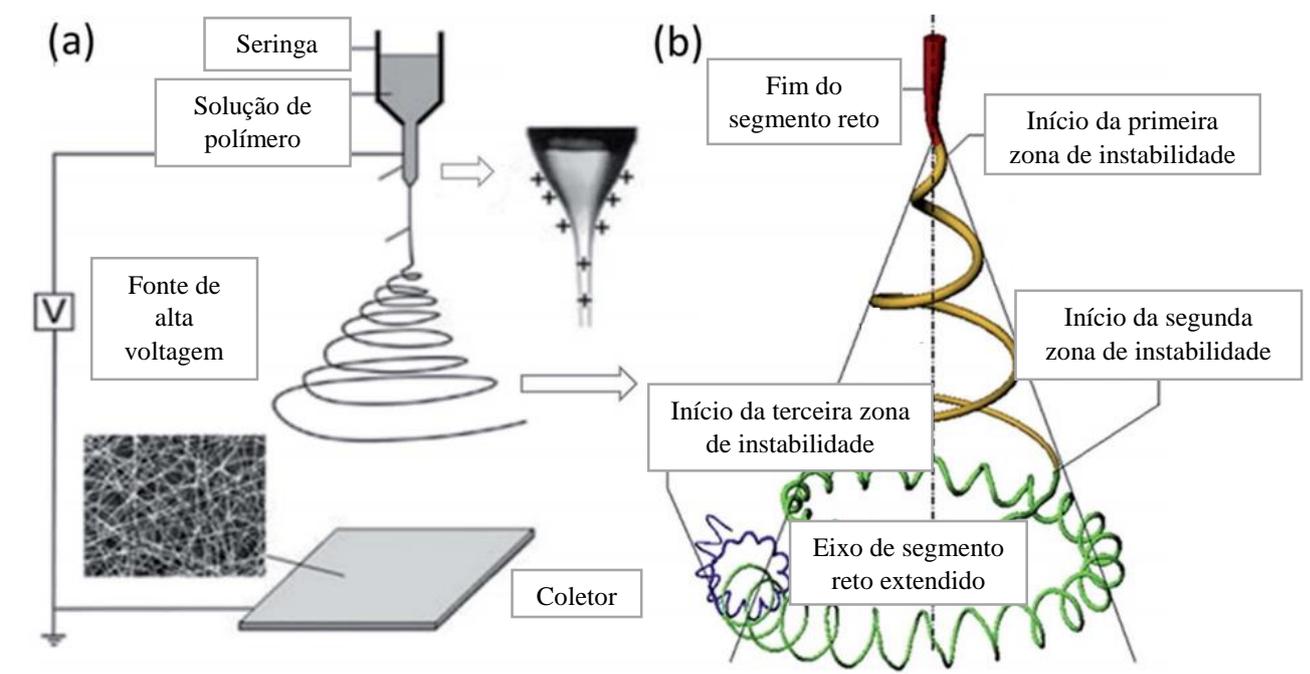


Figura 5: Configuração do equipamento para eletrofição. a) aparelhagem de eletrofição com os 3 componentes básicos e b) o que acontece com a solução polimérica durante o processo de eletrofição. Figura adaptada de Ke e colaboradores.²⁰

A formação de nanofibras e a morfologia das mesmas está relacionada aos parâmetros da solução, como por exemplo, viscosidade, condutividade, massa molecular e tensão superficial; e a fatores ambientais, como temperatura e umidade; e a parâmetros do processo,

como fluxo de alimentação da solução, distância entre coletor e agulha, e voltagem aplicada.^{20,22-23} Cada um dos parâmetros afeta a fibra obtida no processo. A seguir serão detalhados alguns parâmetros que influenciam na obtenção de nanofibras, e que serão importantes para a discussão deste trabalho¹⁹:

- I. Massa Molar: A massa molecular afeta a solubilidade do polímero. Geralmente, quanto maior a massa molar, mais difícil de solubilizar é o mesmo. Além disso, a massa molar afeta a viscosidade, afetando o diâmetro das fibras formadas e o formato dos poros.¹⁹ Polímeros de baixa massa molar não são capazes de serem eletrofiados pois as cadeias poliméricas não possuem a capacidade de sofrer emaranhamento necessário para o estiramento e, desta forma, o jato é rompido e não é possível obter fibras.²⁴
- II. Concentração: A concentração de polímero em solução, além da massa molar, é outro fator importante para o emaranhamento das cadeias poliméricas, possibilitando um jato polimérico contínuo. Entretanto, a concentração do polímero não deve ser elevada demais, pois a alta viscosidade da solução limita a movimentação do polímero, que é induzida pelo campo elétrico. Alguns autores relatam que o aumento na concentração de polímero também pode estar relacionada com diminuição de *beads* (defeitos ao longo da nanofibras, de forma esférica) e aumento de diâmetro das fibras²¹. Por exemplo, Yang e colaboradores²⁵ observaram que, para o PLLA, uma solução de 2 % (m/v) de polímero gerou fibras de 150 – 500 nm, enquanto que com uma solução com 5 % obteve-se fibras com 800 – 3000 nm
- III. Viscosidade: A viscosidade é a medida da resistência que o material apresenta ao fluir, e geralmente se relaciona com a extensão das cadeias poliméricas e a capacidade de emaranhamento das mesmas. Viscosidades mais baixas estão relacionadas com a formação de microesferas/microcápsulas (electrospray), à medida que com o aumento gradual de viscosidade haverá formação de fibras. É aceito que cada solução polimérica possui uma viscosidade mínima na qual pode ser eletrofiada.²⁴ Uma viscosidade baixa leva à diminuição no diâmetro das fibras, pois as forças coulômbicas atuantes durante o estiramento do jato de polímero são mais eficientes.^{19,24} Esse fato também pode ser explicado pela maior resistência que a solução irá apresentar ao estiramento.²⁴ É

interessante ressaltar que, quando uma solução de viscosidade baixa é utilizada, há a tendência à formação de múltiplos jatos durante o processo de eletrofição.

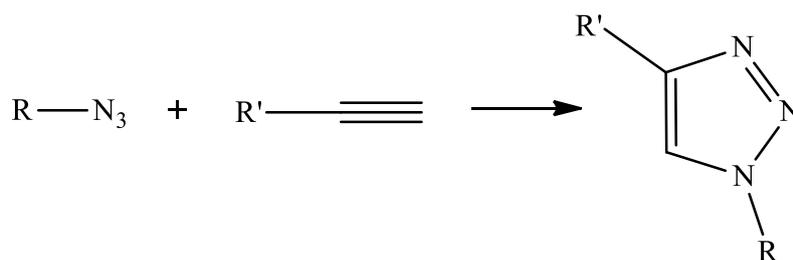
- IV. Voltagem: A voltagem é um elemento crucial pois irá induzir a carga necessária na solução e, a diferença de campo elétrico gerado entre a solução e o coletor será responsável por iniciar o processo de eletrofição.²⁴ Geralmente mais de 6 kV são capazes de promover eletrofição porém, dependendo da velocidade de alimentação da solução polimérica, uma voltagem maior pode ser requerida.²⁴ A voltagem aplicada altera a forma original da gota formada na ponta da agulha. Com relação à fibra obtida, observa-se que a voltagem afeta significativamente o diâmetro da fibra, ou seja, o diâmetro diminui com o aumento da voltagem aplicada, pois, com o aumento da voltagem há o aumento do campo elétrico, tornando a repulsão entre cargas mais efetiva.¹⁹ Um fato observado por Zong et al.²⁶ foi que a voltagens elevadas há a tendência a formação de *beads*.
- V. Fluxo de alimentação: Alterações no fluxo de alimentação da solução polimérica, em um campo elétrico constante, pode originar diferentes morfologias de fibras. Isso ocorre pois há um determinado fluxo de alimentação para uma dada voltagem que leva a formação de um cone de Taylor estável.²⁴ Quanto menor o fluxo de alimentação, menor é o diâmetro da fibra gerada. Com o aumento do fluxo, aumenta o diâmetro e pode também levar a um aumento no número de *beads* na fibra. Isso ocorre devido ao tempo insuficiente para o solvente evaporar antes de chegar ao coletor.¹⁹
- VI. Distância entre coletor e agulha: Como discutido no item anterior relacionado a voltagem, o campo elétrico tem uma grande influência na fibra final. Variando a distância entre seringa e coletor, alteram-se de uma vez dois parâmetros importantíssimos: campo elétrico e tempo de estiramento.²⁴ Uma distância mínima (~8-15 cm) é necessária para que o processo de eletrofição ocorra, ou seja, para que a solução seja devidamente estirada e o solvente evapore.²¹ Ao se diminuir a distância entre coletor e agulha, o jato terá uma distância menor para ser estirado; além disso, com o aumento do campo elétrico, ocorre uma aceleração do jato. Sendo assim, o resultado serão fibras com diâmetros maiores e com maior probabilidade de *beads*. Com o aumento da distância entre coletor a agulha, espera-se o aumento do estiramento da

solução e com isso uma diminuição do diâmetro das fibras que são depositadas no coletor.¹⁹

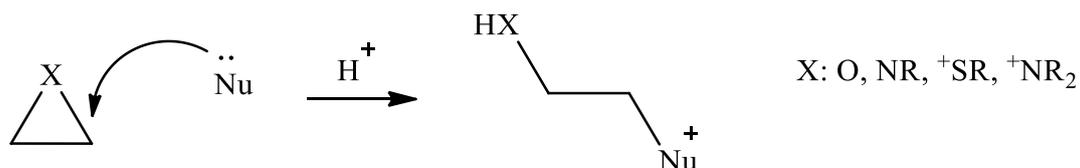
2.3 REAÇÕES CLICK CHEMISTRY

Em 2001, Kolb e colaboradores²⁷ definiram reações do tipo *Click Chemistry* como sendo reações que uniam pequenas moléculas através de ligações entre heteroátomos, como C-X-C. Dentro da definição, observa-se que para uma reação ser classificada como *Click Chemistry*, ela deve ser modular, abrangente quanto aos reagentes, ter elevados rendimentos, ser estereoespecífica, de fácil purificação e levar a subprodutos inofensivos. Além disso, devem ocorrer em condições brandas e com solventes benignos, como água.²⁷ Ou seja, o conceito de *Click Chemistry* não se refere a uma reação em particular, e sim a uma filosofia de síntese que inclui uma gama de reações, que possuem mecanismos diversos²⁸. Reações como cicloadição, substituição nucleofílica e adição a dupla carbono-carbono, são consideradas reações desse tipo²⁹, exemplificadas na Figura abaixo (Figura 6).

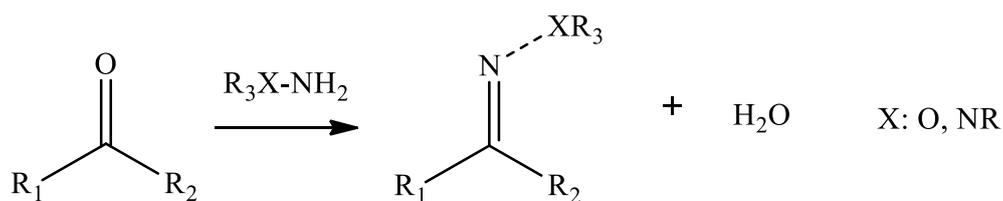
a) Cicloadição



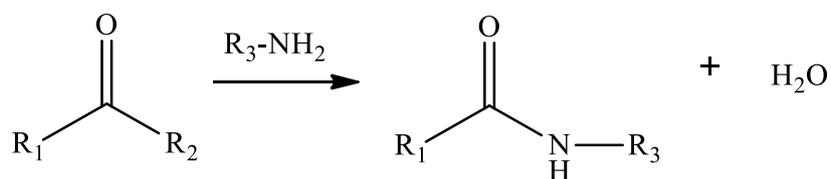
b) Abertura de anel nucleofílica



c) Química de compostos carbonílicos não-aldol



Formação de hidrazona/oxima éter



Formação de amida/isouréia

d) Adições a ligações múltiplas entre carbonos

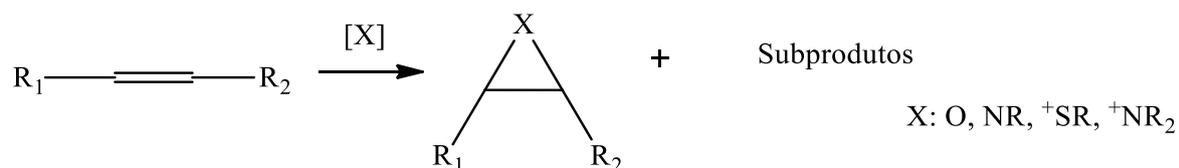


Figura 6: Classificação geral das reações do tipo Click Chemistry, com exemplo. Adaptado de Hein et al.³³

2.3.1 Cicloadições entre azida e alcino catalisada por Cu (I) – Reação *Click*

Dentre as reações descritas por Kolb e colaboradores²⁷ na primeira publicação referente a *Click Chemistry*, o tipo de reação que se apresentava mais promissora era a reação de cicloadição de Huisgen envolvendo heteroátomos, principalmente a do tipo 1,3-dipolar entre grupamento azida e alcino, formando anéis 1,2,3-triazóis, térmica e hidroliticamente estáveis (Figura 7). A reação entre grupamento azida e alcino leva à obtenção dos regioisômeros 1,4- e 1,5-, e é uma reação lenta, mesmo em elevadas temperaturas, devido à elevada energia de ativação. Compostos como 1,2,3-triazóis são conhecidos por possuir atividade biológica, além de ter utilidade industrial no desenvolvimento de corantes, inibidores de corrosão, fotoestabilizadores, materiais fotográficos e agroquímicos³⁰, fazendo com que essa reação seja amplamente utilizada para a síntese de novos compostos.

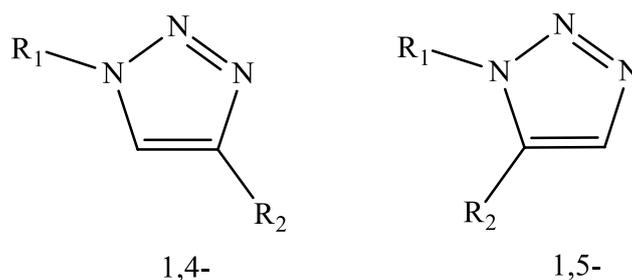


Figura 7: 1,2,3-triazóis 1,4 e 1,5-dissubstituídos obtidos pela cicloadição 1,3-dipolar, adaptado de Xi e colaboradores.³¹

Em 2002, foi descrita pela primeira vez a utilização de catalisador de Cobre (I) na cicloadição 1,3-dipolar entre azida e alcino terminal (CuAAC), obtendo-se elevado rendimento para o regioisômero 1,4- a temperatura ambiente.^{30,32} Mesmo não necessitando de elevação de temperatura, a reação pode ser realizada em uma ampla faixa de temperatura (0 – 140°C), em uma grande variedade de solventes e em faixa ampla de pH (em geral, 5 - 12).³³ Além desses aspectos vantajosos, a reação ocorre cerca de 10⁷ vezes mais rapidamente que a reação não catalisada.²⁸ Após essa publicação, a utilização da reação de acoplamento azida-alcino se tornou grandemente difundida no meio científico.

Geralmente, utiliza-se apenas o termo *Click* para se referir a reação CuAAC, já que essa é a reação mais popular. Tornøe e colaboradores³⁰, em 2002, já propunham que a espécie de

Cu(I) inicialmente se insere no alcino terminal, na presença de base, e é a polarização advinda da interação do alcino com a espécie de Cu(I) que catalisa a cicloadição. A reação não ocorre com alcinos internos, o que sugeria que em alguma etapa da reação a espécie de cobre se ligava covalentemente ao alcino, o que não seria possível se o alcino fosse interno.³⁰

A reação CuAAC necessita de espécie de Cu(I). Essa geralmente é obtida *in situ*, pela redução de um sal de Cu(II), normalmente com ácido ascórbico ou ascorbato de sódio. A obtenção do catalisador *in situ* se revela melhor devido aos custos de purificação que seria necessária se utilizado sal de Cu (I).³² Devido à citotoxicidade da espécie Cu (I), além da possível relação do excesso de cobre no organismo com doenças como Alzheimer, hepatite e disfunções neurológicas^{28,33}, muitas medidas vem sendo tomadas para reduzir a quantidade de catalisador necessária à reação, ou ainda, para evitar a utilização de catalisador.

Para a utilização de reações CuAAC em contato com organismos vivos, observa-se a necessidade da remoção completa do catalisador do produto final²⁸, o que pode ser difícil. Uma medida interessante é a utilização de alcinos cíclicos (Figura 8) que, devido à tensão do anel, têm menor energia de ativação da reação com a azida (do inglês, *Strain Promoted Azide-Alkyne Cycloaddition* – SPAAC).³⁴

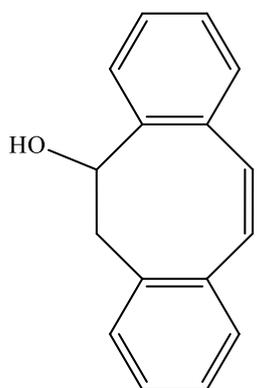


Figura 8: Dibenzociclooctinol, alcino cíclico amplamente utilizado para SPAAC.³⁴⁻³⁵

Mesmo que o próprio nome já proponha que o mecanismo para a reação do tipo CuAAC seja uma cicloadição, que possui como característica ser uma reação concertada, observa-se um favorecimento para o mecanismo por etapas, observando-se uma barreira energética maior para o mecanismo concertado do que para o mecanismo por etapas, ilustrado na Figura 9.³⁶

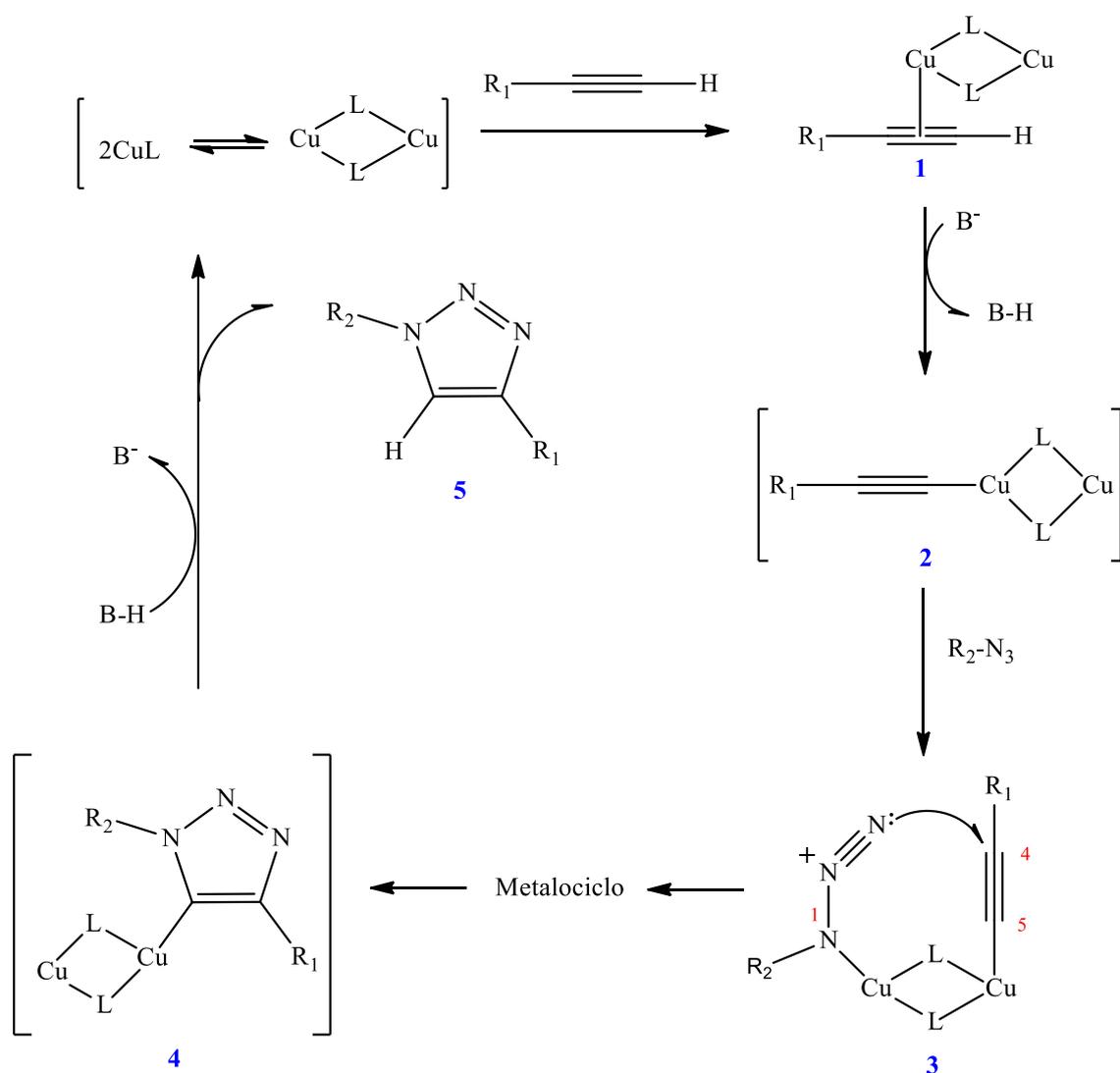


Figura 9: Mecanismo proposto para a cicloadição 1,3-dipolar entre azida e alcino catalisada por Cu (I) (CuAAC), onde L é um ligante. Adaptado de Hein e colaboradores.³³

Como já havia sido proposto por Tornøe³⁰, ocorre inicialmente interação entre a espécie de Cu (I) e o alcino, estando a espécie de cobre na forma dimérica (Figura 9, estrutura 1). A seguir ocorre a desprotonação do hidrogênio terminal e a formação de outra espécie previamente proposta de Cu-acetilídeo (Figura 9, estrutura 2). Essa desprotonação ocorre sem presença de base, quando em solvente aquoso, devido ao abaixamento do pK_a da espécie após a complexação com Cu.³⁶ A próxima etapa seria a inserção da azida à espécie de Cu-acetilídeo, formando a espécie 3 do ciclo, pela substituição pelo nitrogênio da azida de um dos ligantes da espécie de Cu. Dessa forma, a azida está ativada e apresenta nucleofilicidade suficiente para

atacar o C4 do alcino. Com esse ataque, obtém-se um metalociclo, que é desfeito pelo ataque dos pares de elétrons do nitrogênio ao C5 do alcino, formando o anel triazol característico (Figura 9, estrutura 4). É proposto então que a espécie de Cu dimérica então complexa com outro terminal alcino, porém não ocorre cicloadição com este, ocorrendo apenas a dissociação, formando novamente a estrutura 4. A seguir, ocorre a protonação da espécie e liberação do triazol final 5, e a espécie de Cu retorna ao ciclo catalítico.³³

2.3.2 Aplicação de materiais modificados por *Click Chemistry* em Ciência dos Materiais

O grande objetivo da ciência dos materiais é o estudo e o desenvolvimento de novos materiais com características adequadas ao produto final o qual se destina.³⁷ Como a estrutura inicial geralmente dita a possibilidade de aplicação final do material através de propriedades como taxa de degradação, solubilidade, pH, força iônica, temperatura e resposta à estímulos externos, como campo magnético, mudanças químicas na estrutura do material podem levar à modificação de algum desses parâmetros listados, tornando certos materiais mais atrativos industrialmente do que outros.³⁷

O estudo dos mecanismos das reações do tipo *Click* para síntese de novas moléculas chamou atenção para seu emprego em outra área, como por exemplo seu potencial de aplicação na modificação química de superfície de materiais, principalmente devido à facilidade e rapidez dessa reação, que poderia substituir os métodos comumente utilizados e que necessitavam de diversas etapas ou maior tempo reacional.³⁷

Observa-se a publicação de mais de 1500 artigos entre 2010 e 2012 sobre *Click Chemistry*, com relevância para a Ciência dos Materiais.³¹ Outro fato bastante interessante pode ser encontrado na publicação em que Kolb e colaboradores (2001)²⁷ definem *Click Chemistry*. Nesse artigo é salientada como foco principal a aplicabilidade deste tipo de reação para o desenvolvimento de fármacos, porém dados da literatura recente descrevem que dois terços das investigações em *Click Chemistry* estão relacionadas a áreas da Ciência dos Materiais.³³

Para a utilização da reação do tipo cicloadição de azida e alcino na modificação de materiais já existentes, é necessária a introdução dos grupos que sofrem a *Click* à estrutura do material: o grupo funcional azida e o alcino terminal; ou, alternativamente, a modificação de algum grupo funcional preexistente na estrutura.³⁷ Geralmente essa etapa de introdução de

grupos funcionais não limita a utilização da reação de cicloadição *Click*, já que os grupos funcionais necessários são excepcionalmente estáveis.²⁸

As aplicações das reações do tipo *Click* na área de polímeros estão presentes em diferentes categorias, como na síntese de copolímeros em bloco, síntese de copolímeros lineares multifuncionais, síntese de dendrímeros, síntese de polímero reticulado e modificação de polímero. A síntese de copolímeros através da funcionalização de terminais, seguida pela ligação entre esses grupos funcionais é um método que permite a síntese de materiais com monômeros que não seriam “compatíveis” para a síntese pelas rotas convencionais.³³

A aplicação de reações *Click* para a modificação de superfícies também é de grande interesse, pois a utilização desse método de funcionalização possibilita uma alternativa de modificação química utilizando uma reação que apresenta vantagens do ponto de vista experimental, além de permitir uma funcionalização específica devido à reação seletiva entre os grupos funcionais azida e alcino. O controle das mudanças na superfície, principalmente de polímeros, possibilita a modificação das propriedades químicas e pode tornar a superfície biologicamente compatível.³⁷

2.4 REAÇÃO *CLICK* EM NANOFIBRAS OBTIDAS POR ELETROFIAÇÃO

Nanofibras que possibilitam a mudança de propriedades de sua superfície vêm atraindo grande atenção da comunidade científica, principalmente em áreas estratégicas da biomedicina como na utilização em biossensores, membranas de afinidade para separação de biomoléculas, engenharia tecidual e como veículo para liberação controlada de fármacos.³⁸

Geralmente, a funcionalização de fibras com outras cadeias poliméricas pode ocorrer na forma de “*grafting from*” ou “*grafting to*” (*grafting* – reação de enxerto). O primeiro método envolve a utilização da superfície ativa para a polimerização radicalar por transferência de átomo (ATRP, do inglês *atom transfer radical polymerization*). O segundo envolve a reação de acoplamento por amida ou éster, utilizando grupos funcionais hidroxila, amina ou ácido carboxílico para a reação. Este último trata-se de um método genérico para a funcionalização por meio de reação química de nanofibras. Ambos os métodos apresentam limitações, vinculadas ao controle da reação de polimerização e ao fato da reação ser em meio heterogêneo. A fim de contornar as limitações dos métodos já conhecidos, a utilização de reações de

cicloadição entre azida e alcino vêm apresentando bons resultados devido ao alto rendimento reacional, elevada tolerância a grupos funcionais e condições reacionais brandas.³⁹

Huang e colaboradores³⁸ descreveram a modificação de superfície de nanofibras de copolímero de poli(álcool vinílico) e polietileno (PVA-*co*-PE), utilizando os grupamentos hidroxila terminal expostos na superfície da fibra como grupo reativo para a modificação de superfície. A ativação dos OH- da superfície foi realizada a partir do tratamento com hidróxido de sódio e posterior reação com cloreto cianúrico. A partir dessa estrutura química na superfície, foram reagidos azida de sódio e propargilamina. Assim, os autores obtiveram uma nanofibra passível de modificação via reação CuAAC.

Dois trabalhos de Fu e colaboradores⁴⁰⁻⁴¹ foram publicados em 2009 descrevendo a utilização de reações *click* em superfícies de nanofibras com a finalidade de ancorar moléculas com propriedades especiais. No primeiro artigo publicado⁴⁰, os autores obtiveram nanofibras de um copolímero em bloco de poli(cloreto de 4-vinilbenzeno) e poli(metacrilato de glicidila) (PVBC-*b*-PGMA), funcionalizaram a fibra com azida de sódio (o que levou também à reticulação do mesmo) e a reagiram posteriormente via CuAAC com poli(*n*-isopropilacrilamida) (PNIPAM) terminada com grupo funcional alcino. O interesse em funcionalizar a superfície com PNIPAN deveu-se ao fato de que esse polímero, a uma baixa temperatura, modifica sua hidrofiliicidade (a 32°C passa de hidrofílico para hidrofóbico), sendo um polímero termorresponsível, podendo ser aplicado em tratamento de água, em sistema de liberação controlada de fármacos e em aplicações biomédicas. No segundo artigo publicado⁴¹, o método de funcionalização foi semelhante, porém a nanofibra de PVBC-*b*-PGMA, após funcionalizada e reticulada, foi reagida com uma molécula fotorresponsiva, a 4-propargiloxiazobenzeno, sendo um material com possível aplicação em sistemas de liberação de fármacos. Esses dois estudos mostram que há uma grande versatilidade com relação a moléculas que podem ser ancoradas em nanofibras via CuAAC.

Também em 2009 foi publicado o trabalho de Chang e colaboradores³⁹, no qual modificavam a superfície de uma nanofibra da poliamida poli(ácido âmico) (PAA) terminada em grupo funcional azida, pela reação com poli(metil-metacrilato) (PMMA) terminado em alcino, utilizando catalisador de Cu (I). Os autores observaram que a utilização desse método para modificação de superfície é uma ferramenta importante, pois, por exemplo, nesse caso permitiu o aumento da compatibilidade interfacial ao utilizarem PMMA como reforço em uma matriz de PAA.

Em 2012 Lancuški e colaboradores⁴² publicaram um artigo que relatava a modificação superficial de nanofibras de PCL-diol modificada terminalmente com grupos funcionais azida, através de reações do tipo *Click Chemistry*. Neste estudo, a modificação foi realizada com derivado de isotiocianato de fluoresceína, o que possibilitou quantificar através de um método colorimétrico o grau de modificação superficial nas nanofibras. A importância desse tipo de funcionalização superficial está no fato de que geralmente poliésteres como o PCL são “inertes”, pois não possuem grupos funcionais reativos que possam possibilitar a funcionalização superficial da fibra. Sendo assim, métodos como esse possibilitam que poliésteres tenham uma maior gama de aplicações.

Com a intenção de tornar nanofibras materiais passíveis de modificações, Qian e colaboradores⁴³ utilizaram nanofibras do tipo casca-núcleo (coaxiais) com núcleo de poliacrilonitrina (PAN) e casca de polifosfazeno, que é uma classe de polímeros com grande capacidade de substituição, por possuir na sua cadeia átomos de N e P. O polifosfazeno em questão possuía uma amina substituída com um grupo propargil, possibilitando a reação do tipo *Click*. A reatividade foi testada com derivado de isotiocianato de fluoresceína. Este estudo apresentou uma alternativa interessante para a funcionalização superficial de nanofibras de polímeros do tipo casca-núcleo que, apesar de possuírem boas propriedades mecânicas não possibilitam modificar suas propriedades químicas.

Frente ao exposto, este trabalho visa o desenvolvimento de material de PLA capaz de ser modificadas após eletrofiação, possibilitando adequação de propriedades químicas e físicas como hidrofobicidade, a fim de melhorar adesão celular, ou reticulação das cadeias poliméricas, melhorando propriedades mecânicas da nanofibras.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Obtenção de nanofibras poliméricas de poli(ácido lático) (PLA) funcionalizáveis através da reação do tipo Cicloadição entre Azida e Alcino Catalisado por Cu(I) (CuAAC).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar poli(ácido lático) (PLA) funcionalizado terminalmente com grupo alcino a partir de polimerização por abertura de anel (ROP), utilizando catalisador de estanho;
- Investigar as soluções elaboradas a partir de blenda de PLA modificado com alcino e PLA de alta massa molar por medida de viscosidade
- Obter nanofibras por eletrospinning a partir da blenda de PLA modificado com alcino (PLA_alc) e PLA de alta massa molar comercial (PLA_am);
- Caracterizar a morfologia e as propriedades térmicas das nanofibras obtidas através do processo de eletrospinning;
- Quantificar a superfície ativa da nanofibra por reação de cicloadição entre azida e alcino com Rodamina-B com grupo funcional azida (ROD-N₃).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS

O monômero 3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona utilizado foi adquirido da Sigma-Aldrich, e a sua purificação está descrita na sessão 4.2, o espectro de RMN ^1H se encontra em anexo. O PLA_{am} foi adquirido da PURAC e reprecipitado em tolueno seco. Álcool propargílico (espectro de RMN ^1H em anexo), bis-(2-etil-hexanoato) de estanho (II) ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$), Rodamina-B, dicicloexilcarbodiimida (DCC), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) e N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC) foram também adquiridos da Sigma-Aldrich, e utilizado como recebidos. Azida de sódio (Nuclear), ascorbato de sódio (Neon) e Sulfato de Cobre (II) pentahidratado (Neon) foram utilizados sem mais purificações. Os solventes tetrahidrofurano (THF) (FMaia), éter-etílico (FMaia), metanol (FMaia) clorofórmio (FMaia) e clorofórmio-D (Aldrich) foram utilizados como recebidos. Tolueno (Nuclear) e diclorometano (Neon), quando necessário, foram secos utilizando sódio metálico e P_2O_5 , respectivamente

4.2 POLIMERIZAÇÃO DO LACTIDEO POR ABERTURA DE ANEL (ROP)

As reações de polimerização foram realizadas sob atmosfera inerte de argônio utilizando como catalisador bis-(2-etil-hexanoato) de estanho (II) e como iniciador o álcool propargílico. O solvente escolhido foi o tolueno. O controle da massa molar se deu pela determinação da razão molar entre a concentração do monômero e do álcool¹² ($[\text{monômero}]/[\text{OH}]$, segunda coluna da tabela II). Condições reacionais como temperatura, tempo e razão iniciador/catalisador foram variadas para avaliar a influência no polímero obtido, conforme ilustrado na tabela II.

Tabela II: Condições reacionais empregadas para as reações de polimerização por abertura de anel do lactídeo.

Entrada	[monômero]/ [OH]	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Sn/OH
1^a	70	100	16	0,03
2	70	140	4	0,03
3	70	140	2	0,03
4	70	140	1	0,03
5	70	140	4	1
6	70	140	2	1
7	70	140	1	1
8	70	140	4	4
9	70	140	2	4
10	70	140	1	4
11^b	-	140	1	-
12^c	-	140	1	-

^a Condições reproduzidas de Laville et al.⁴⁴

^b Reação realizada apenas com o dímero após purificação para comprovar que não há autoiniciação

^c Reação realizada sem adição de iniciador, com quantidade de catalisador equivalente a utilizada para uma reação com relação Sn/OH = 1

A fim de evitar impurezas no meio reacional, o dímero lactídeo foi recristalizado. A metodologia utilizada consistiu em dissolver o mesmo em tolueno (previamente seco) à quente, e promover a recristalização do mesmo pelo resfriamento lento do sistema (entrada 11). A pureza do dímero foi comprovada por reação sem adição de sistema catalítico, comprovando que não há autoiniciação. Uma reação apenas com o catalisador (sem iniciador) foi realizada (entrada 12).

A reação de polimerização foi realizada em balão com tampa de rosca herméticamente fechado, previamente purgado com argônio. Primeiramente o lactídeo (2 g, 13,88 mmol) foi pesado e adicionado ao balão, juntamente com 10 mL do solvente (tolueno previamente seco com sódio metálico e destilação sob atmosfera inerte). A temperatura do sistema foi elevada para ocorrer dissolução do lactídeo. Quando o sistema atingiu a temperatura reacional, Sn(Oct)₂ e álcool propargílico, previamente purgado, foram adicionados ao sistema. Após o tempo reacional, o polímero foi precipitado em etanol gelado. As reações que não precipitavam nesse solvente foram precipitadas em hexano. O polímero sintetizado funcionalizado com grupo alcino foi denominado PLA_alc. O produto foi analisado por RMN ¹H e GPC.

4.3 SÍNTESE DA 3-AZIDO-1-PROPANOL

O 3-azido-1-propanol foi sintetizada seguindo procedimento experimental semelhante ao descrito por Staff e colaboradores⁴⁵. Neste trabalho, os autores sintetizaram 2-azido-etanol a partir de 2-cloro-etanol. Após adaptações, o procedimento para a síntese do composto de interesse foi realizado da seguinte forma:

A uma solução de 3-cloro-propanol (7,7 mmol, 0,65 mL) em 6 mL de NaOH 1 mol/L foi adicionado NaN₃ (30,8 mmol, 2g). Esta mistura foi então agitada por 1 hora a temperatura ambiente (25 °C) e por 24 horas à 50 °C. Após a solução atingir a temperatura ambiente, 0,8 g de NaCl foram adicionados. Subsequentemente, a solução foi extraída com diclorometano (5 vezes de 10 mL). As fases orgânicas foram combinadas e então secas com MgSO₄ anidro. Um líquido límpido foi obtido. Rendimento: 60 %

Os produtos reacionais obtidos foram analisados por RMN ¹H, RMN ¹³C e espectroscopia no infravermelho em janela de NaCl.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 3,74 (t, 2H, J = 8,4 Hz); 3,45 (t, 2H, J = 5,4 Hz); 2,20 (s, 2H); 1,83 (m, 2H, J = 5,8 Hz).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 31,41; 48,42; 59,72 ppm.

IV: 2100 cm⁻¹.

4.4 SÍNTESE DA AZIDO-RODAMINA-B (ROD-N₃)

Para a síntese da azido-rodamina-B foram testadas duas rotas sintéticas com base no procedimento experimental descrito por Staff e colaboradores⁴⁵, que descreviam a síntese a partir de 2-azido-1-etanol e rodamina-B (método Rod-01), e o segundo descrito por Wei e colaboradores em 2010⁴⁶ para a síntese a partir de 6-azido-hexanol e rodamina-B (método Rod-02).

Para o método Rod-01, a Rodamina-B (3,68 mmol, 1,76 g) e 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0,04 mmol, 0,004 g) foram adicionados em um frasco de Schlenk, o qual foi purgado com argônio. Após, 3-azido-propanol (3,55 mmol, 0,33 mL) e 10 mL de diclorometano seco foram adicionados ao sistema. O frasco foi resfriado a 0 °C e diciclohexilcarbodiimida (DCC) (7,32 mmol, 1,51 g) foi adicionado. A solução foi agitada a essa temperatura por 30 minutos e por 24 h a temperatura ambiente. O precipitado incolor foi removido por filtração e 10 mL de diclorometano foram adicionados. A solução foi lavada com NaHCO₃ (2 x 20 mL) e com 20 mL de água (1x). A fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro e o diclorometano foi removido em rota-evaporador. O resíduo sólido foi dissolvido em THF e precipitado em éter etílico gelado. A precipitação foi repetida até o sólido estivesse puro. Um sólido rosa-dourado foi obtido.

Para as reações Rod-02, Rodamina-B (0,64 g, 1,33 mmol) e 3-azido-propanol (2,16 mmol, 0,20 mL) foram dissolvidos em 10 mL de diclorometano. Cloridrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC) (1,98 mmol, 0,38 g) e DMAP (1,31 mmol, 0,16 g) foram adicionados como sólido. A mistura reacional foi deixada em agitação *overnight* a temperatura ambiente (25 °C) e lavada com HCl 1 mol/L (3 x 10 mL), NaHCO₃ (3 x 10 mL) e NaCl saturado (10 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro e concentrada. O óleo vermelho obtido foi redissolvido no mínimo de THF e precipitado em 100 mL de éter etílico. Esse processo foi repetido inúmeras vezes, até que o sólido apresenta-se puro. O composto obtido foi um sólido vermelho-dourado. Rendimento: 50 %.

Os produtos reacionais obtidos foram analisados por RMN ¹H, RMN ¹³C e espectroscopia no infravermelho.

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 8,32 (d, 1 H, J = 5,4 Hz); 7,84 (dt, 1H, J = 7,6 Hz); 7,77 (dt, 1H, J = 7,8 Hz); 7,34 (d, 1H, 7,2 Hz); 7,09 (d, 2H, J = 4 Hz); 6,94 (dd, 2 H, J = 9,4 Hz);

6,86 (d, 2H, J = 5,4 Hz); 4,14 (t, 2H, J = 5,2 Hz); 3,66 (m, 8H, J = 5,4 Hz); 3,22 (t, 2H, J = 6,2 Hz); 1,77 (m, 2H, J = 6,2 Hz); 1,14 (t, 12 H, J = 7,2 Hz).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 164,97; 158,63, 157,73; 155,69; 133,50; 133,29; 130,51; 130,32; 129,74, 114,36; 113,48; 96,42; 77,29; 62,57; 48,03; 46,01; 27,90; 12,67.

IV – KBr: 2300 cm⁻¹.

4.5 OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE BLENDA DE PLA_AM/PLA_ALC

As nanofibras modificadas de PLA foram obtidas pela mistura de PLA puro de alta massa molar (PLA_am) e PLA sintetizado de baixa massa (PLA_alc) em diferentes proporções, utilizando como solvente CH₂Cl₂.

As condições de eletrofição foram determinadas por meio de testes realizados e modificações de parâmetros tais como: fluxo de alimentação, distância entre agulha e coletor e voltagem aplicada. A análise da formação de fibras se dava instantaneamente, através de visualização em microscópio óptico.

As fibras obtidas foram analisadas quanto a morfologia, utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV); propriedades térmicas utilizando análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), métodos descritos nos itens 4.7.3, 4.7.4, 4.7.6.

4.6 QUANTIFICAÇÃO DE GRUPO FUNCIONAL NA SUPERFÍCIE DA NANOFIBRA

Nas reações realizadas para verificar e quantificar os grupos funcionais alcino na superfície das nanofibras processadas, foi utilizada reação do tipo CuAAC com o derivado de Rodamina-B, utilizando como sistema catalítico Cu²⁺ (CuSO₄) e ascorbato de sódio.

A um frasco adicionou-se ROD-N₃ (3 eq) e o volume do solvente necessário para a reação. Agitou-se o sistema até a dissolução completa do corante modificado e então adicionou-

se CuSO₄ (0,01 eq) e o agente redutor ascorbato de sódio (0,05 eq). Após a homogeneização do sistema, a nanofibra foi imersa e deixada para reagir por tempo determinado. Após a reação, a nanofibra foi lavada com 50 mL de água (2x20 mL + 1x10mL) e seca em estufa. O material foi então dissolvido em THF, diluído em balão volumétrico com volume adequado e a medida de espectroscopia de UV-Vis foi realizada com a solução resultante.

Foram utilizadas as metodologias listadas a seguir (tabela III) para a funcionalização das fibras.

Tabela III: Condições experimentais variáveis para a *click* entre a nanofibra funcionalizada com alcino e o corante ROD-N₃

Entrada	Agitação	Volume (mL)	Solvente	Tempo (h)
RF_1^a	Não	10	1:2 água/MeOH	- ^b
RF_2^c	Sim	10	Água	16
RF_3	Não	3	Água	48/120
RF_4	Não	3	1:2 água/MeOH	48/120
RF_5	Não	4	1:3 água/MeOH	48/120

^a Metodologia adaptada de Fu e colaboradores (2009)⁴¹

^c Reação realizada mergulhando-se a nanofibra no meio reacional por 3 vezes

^b Metodologia adaptada de Callahan e colaboradores (2013)³⁵

As condições expostas na tabela III foram escolhidas partindo-se das observações realizadas das metodologias RF_1 e RF_2, que são baseadas na literatura. O comportamento do material no meio reacional quanto à hidrofobicidade dirigiu a adaptação de condições reacionais.

4.7 EQUIPAMENTOS E CONDIÇÕES DE ANÁLISES

4.7.1 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio: RMN ¹H e RMN ¹³C

A massa molar dos polímeros de poli(ácido láctico) sintetizados e o grau de modificação do grupamento terminal foi analisado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio em equipamento Varian 400 MHz (CNANO – UFRGS).

Essa análise também foi utilizada para analisar os produtos das sínteses dos compostos 3-azido-1-propanol e ROD-N₃, porém estas foram realizadas em equipamento Bruker 400 MHz (Central Analítica, Instituto de Química – UFRGS). As análises de RMN ¹³C foram realizadas em mesmo equipamento em frequência de 100 MHz.

Todas as análises foram realizadas em clorofórmio deuterado (CDCl₃) em tubos em 5 mm.

4.7.2 Cromatografia de Permeação em Gel: GPC

As massas molares médias (M_n) dos polímeros foram determinadas em cromatógrafo de permeação em gel Viscotek modelo VE 2001 (Central Analítica, Instituto de Química – UFRGS) com detector triplo acoplado (Índice de Refração, Viscosimétrico e Espalhamento de Luz) Viscotek TDA 202, com colunas de PS/PDVB. Foi utilizada calibração com padrões de poliestireno. O solvente de eluição foi tetrahidrofurano (THF) com um fluxo de 1 mL/min a 45 °C.

4.7.3 Análise Termogravimétrica: TGA

Através da análise termogravimétrica foi realizada a determinação das temperaturas de máxima perda de massa. As análises termogravimétricas foram realizadas no analisador térmico SDT Q600 (TA Instruments), localizado no LAMAT-UFRGS. A rampa de aquecimento

utilizada foi de 20°C/min com a temperatura variando entre 25 e 600 °C. As análises foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio (100 mL/min).

4.7.4 Calorimetria Exploratória Diferencial: DSC

Através da técnica de calorimetria exploratória diferencial foram determinadas, sempre que possível, a temperatura de fusão cristalina (T_m), a temperatura de transição vítrea (T_g) e a temperatura de cristalização (T_c) dos polímeros.

As análises calorimetria exploratória diferencial foram realizadas no equipamento para análise térmica DSC Q20 da TA Instruments (Central Analítica, Instituto de Química – UFRGS). A análise foi realizada com dois ciclos de aquecimento. O primeiro tem como temperatura inicial 25°C e temperatura final de 200°C, com taxa de aquecimento de 20°C. Ao atingir a temperatura final, era mantida uma isoterma por 5 minutos e então a amostra é resfriada em taxa de resfriamento de 20°/min até -20 °C. Ao atingir esse limite inferior, a temperatura é mantida por 5 minutos e então iniciava-se a segunda rampa de aquecimento, até 200 °C, com taxa igual a anterior. A T_g e a T_m foram analisadas com os dados referentes ao segundo aquecimento ao qual a amostra foi submetida. Todas as análises foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio.

4.7.5 Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho: IV

As análises de espectroscopia no infravermelho dos polímeros sintetizados foram realizadas para comprovar a funcionalização dos mesmos com o grupo terminal alcino desejado, pelo aparecimento de banda característico de ligação tripla em 2300 cm^{-1} . Para os polímeros, a análise foi realizada em IV-ATR em equipamento Varian 640-IR. Esse mesmo equipamento foi utilizado para analisar o composto 3-azido-1-propanol, em janelas de NaCl.

Essa técnica também foi utilizada para caracterizar o corante ROD-N₃, porém a análise foi realizada em matriz de KBr em equipamento IR Prestige-21 da marca Shimadzu (Central Analítica, Instituto de Química – UFRGS), analisando a banda referente ao grupo funcional azida, em 2100 cm^{-1} .

4.7.6 Microscopia Eletrônica de Varredura: MEV

As análises de MEV foram realizadas utilizando um microscópio JSM 6060 (CME – UFRGS), empregando uma voltagem de 5 kV. As amostras foram previamente metalizadas com ouro. Essa técnica foi utilizada para analisar a morfologia das nanofibras obtidas por eletrofição. As análises dos diâmetros de fibra foram realizadas utilizando o software ImageJ®.

4.7.7 Viscosidade

A viscosidade das soluções elaboradas a partir de PLA e suas respectivas blends, foi determinada em viscosímetro Brookfield HB DV-II + cone/placa (LAPOL/DEMAT – UFRGS), usando cp S40 e S51 em um intervalo entre 10 e 100 rpm.

4.7.8 Espectroscopia na região do ultravioleta-visível - UV-Vis

A espectroscopia de UV-Vis foi realizada em equipamento Varian Cary 50 conc (Central Analítica, Instituto de Química – UFRGS), em célula de vidro, com caminho óptico de 10 mm. A análise foi realizada de 200 a 800 nm, em velocidade média.

A curva de calibração foi realizada com soluções em ampla faixa de concentrações, que variaram de 10^{-8} a 10^{-6} mol/L, em soluções do composto ROD-N₃ no solvente THF.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 POLIMERIZAÇÃO POR ABERTURA DE ANEL

A síntese do poli(lactídeo), através de polimerização por abertura de anel foi realizada utilizando-se $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ e álcool propargílico como iniciador. Esse sistema foi escolhido com a intenção de que o polímero sintetizado possuísse como grupo terminal o grupo propargil, o qual é um grupo reativo para a reação de cicloadição de Huisgen entre azida e alcino catalisada por $\text{Cu}(\text{I})$ (CuAAC). Para isso, foram avaliadas condições reacionais que proporcionassem a obtenção do polímero desejado.

Variou-se a razão entre catalisador e iniciador em 0,03, 1 e 4, a fim de avaliar o efeito que esta tem sobre o polímero obtido. É importante ressaltar que uma alta concentração de $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ favorece a transesterificação, o que limita o controle de polimerização.¹² A razão de 0,03 foi estudada pois Laville e colaboradores⁴⁴ descreveram a polimerização do lactídeo com o catalisador e iniciador desejado utilizando essa proporção, obtendo polímeros de baixa massa molar, em reações a baixa temperatura (100 °C) e tempos reacionais de 16 horas. As demais razões foram estudadas (1 e 4) por 0,03 ser considerada uma razão baixa em demais estudos.⁴⁷

Com relação à temperatura, variou-se em 100 e 140 °C. No artigo citado no parágrafo anterior, Laville⁴⁴ utilizou a temperatura de 100 °C para a reação de polimerização. A utilização do mesmo catalisador e solvente, na temperatura de 140 °C foi descrita por Bach⁴⁷ na ROP do lactídeo utilizando como iniciador 1-butanol. Portanto, considerou-se válido o estudo dessa temperatura para a reação. Esse estudo de condição reacional está de acordo com a teoria que descreve que um aumento na temperatura quase sempre resulta em um aumento na taxa de polimerização.¹⁰

Estudou-se a redução do tempo reacional de 16 para 1, 2 e 4 horas, devido a literatura relatar que elevados tempos reacionais não são interessantes pois levam a um aumento na taxa de transesterificação em elevada temperatura⁴⁸, além de serem experimentalmente menos interessantes.

Sendo assim, foram realizadas 10 variações de reagentes descritos conforme a tabela IV.

Tabela IV: Reações de polimerização realizadas com as respectivas condições experimentais.

Entrada	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Sn/OH
1	100	16	0,03
2	140	4	0,03
3	140	2	0,03
4	140	1	0,03
5	140	4	1
6	140	2	1
7	140	1	1
8	140	4	4
9	140	2	4
10	140	1	4
11^a	140	1	-
12^b	140	1	

^a Reação realizada apenas com o dímero após purificação para comprovar que não há autoiniciação.

^b Reação realizada sem adição de iniciador, com quantidade de catalisador equivalente a utilizada para as reação que utilizam Sn/OH = 1.

Avaliou-se por RMN ¹H a taxa de conversão em tempos preestabelecidos de reação, utilizando a Equação 1.

$$\text{Grau de conversão (GC)} = \left[\frac{AH2}{\left(\frac{AH1}{2} + AH2\right)} \right] \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde AH2 é a área relativa ao H metínico do PLA (aproximadamente 5,1 - 5,2 ppm) e AH1 é a área relativa ao mesmo H no monômero (aproximadamente 5,0 – 5,05 ppm), conforme pode ser observado na Figura 10. Com essa fórmula, é possível comparar o grau de conversão de monômero em polímero pela razão das áreas dos picos relativos a cada sinal característico.

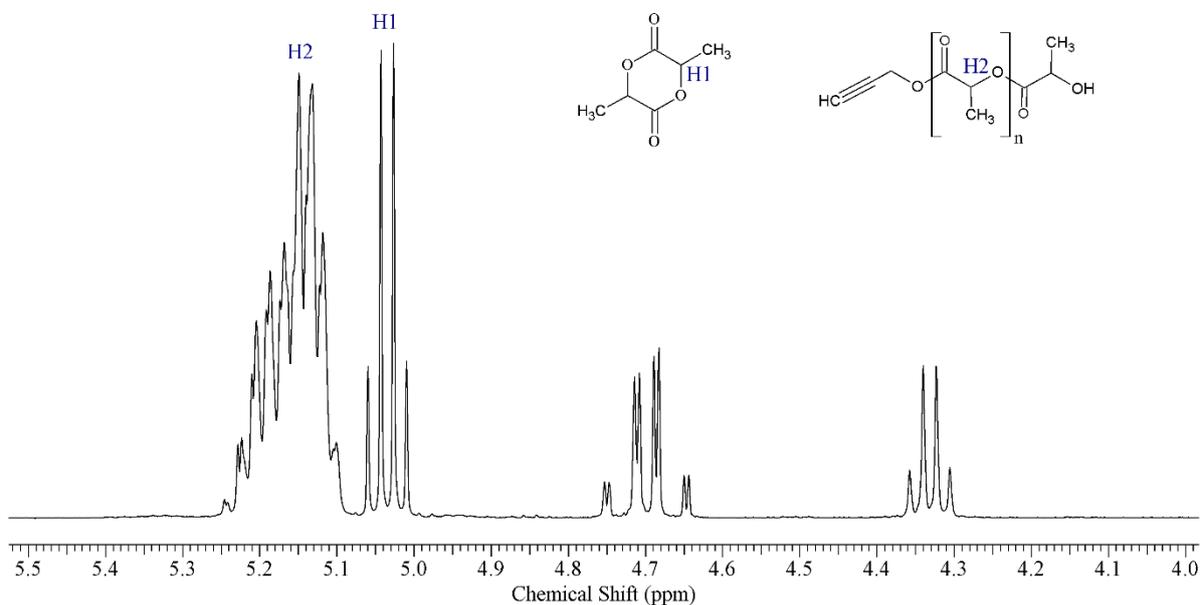


Figura 10: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de uma reação de polimerização em andamento, no qual são visualizados os picos relativos ao lactídeo.

Com o término do tempo reacional, foram realizadas análises de RMN ^1H para verificar a massa molar do polímero sintetizado e o grau de funcionalização do mesmo, com as seguintes equações:

$$\text{Grau de polimerização} = \frac{AH2}{AH4} \quad \text{Eq. 2}$$

$$Mn_{RMN\ ^1H} = (GP \times 72) + 55 \quad \text{Eq. 3}$$

$$\text{Grau de modificação} = \left(\frac{AH5}{AH4} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 4}$$

Onde AH2, AH5 e AH4 estão especificados na Figura 11, como sendo os hidrogênios do carbono metínico da unidade repetitiva do PLA (1H, ~5,1-5,2 ppm); o AH5 (1H, ~2,5 ppm)

sendo o hidrogênio relativo ao terminal alcino (H da ligação tripla) e AH4 sendo o hidrogênio terminal típico do PLA (1H, ~4,3 ppm). O número 55 adicionado na equação 3 é referente ao grupo terminal propargila.

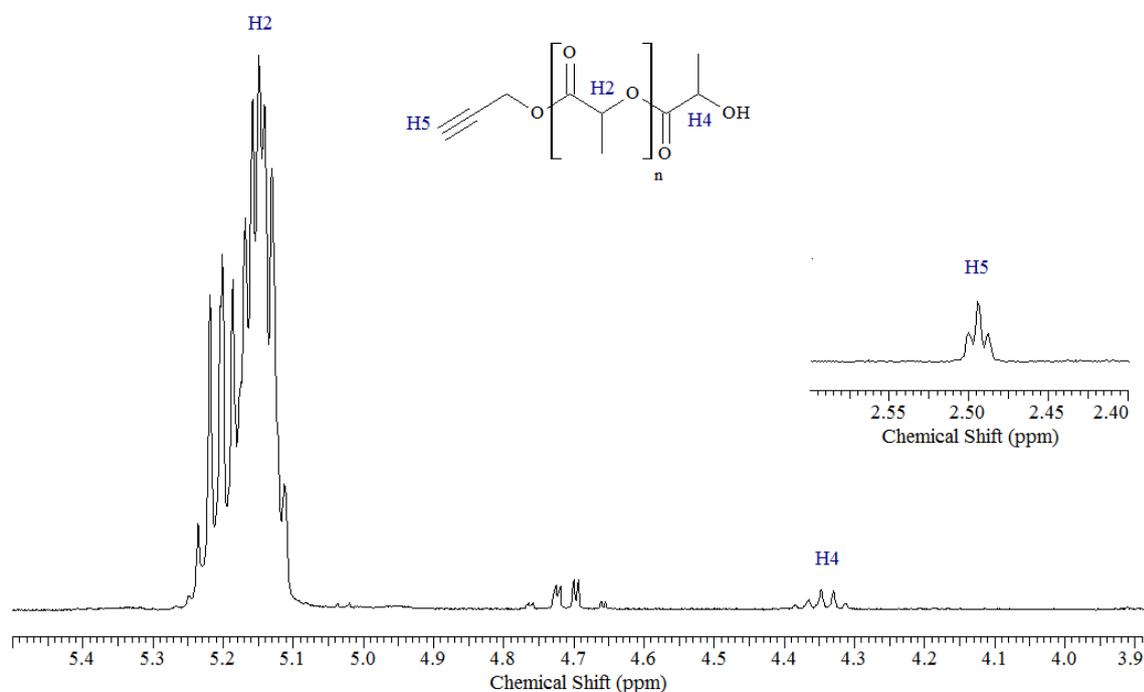


Figura 11: Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do polímero sintetizado, evidenciando os sinais utilizados para os cálculos.

Sendo assim, os polímeros obtidos a partir das reações realizadas de acordo com a tabela IV foram analisados com relação à massa molar (RMN ¹H e GPC) e o grau de modificação, e os resultados obtidos para as reações foram organizados na tabela V. É importante ressaltar as diferenças entre os valores de massa molar quando comparados os métodos empregados, RMN ¹H e GPC. Esta diferença pode ser explicada por dois fatores: o primeiro se deve ao fato de que na análise de GPC, a interação do solvente com o polímero interfere no resultado obtido pois altera o volume hidrodinâmico da molécula, tornando necessário que se faça uma curva de calibração do polímero que se deseja analisar⁴⁹, o que não foi possível realizar. O segundo fator que torna os dois resultados díspares é que a análise de RMN ¹H não permite determinar se a distribuição de massas molares é unimodal, ou seja, podem haver diversas distribuições de massas molares, porém a massa molar calculada será sempre para uma distribuição unimodal.

A tabela V abaixo traz as informações obtidas com relação à análise da alíquota retiradas final, calculando-se, com a equação 1, o grau de conversão de monômero em polímero.

Tabela V: Percentual de conversão para a ROP do lactídeo e relação da massa molar média (g/mol) com o tempo reacional para as polimerizações realizadas.

Entrada	Conversão final (%)
1	0
2	94
3	94
4	46
5	95
6	99
7	95
8	93
9	95
10	97
11^b	-
12^b	-

^a A amostra não apresentou os picos que possibilitam o cálculo de massa molar.

^b Os dados não foram analisados.

É observado que apenas na reação 4 a conversão foi baixa (46 %). Isso pode ser explicado devido à baixa razão Sn/OH (0,03), aliada a um curto tempo reacional (1 h), que não possibilitou a conversão total de dímero em polímero. As demais entradas apresentaram elevadas conversões finais (acima de 90 %).

A tabela VI traz as informações a respeito da massa molar e percentual de modificação obtidos por RMN ¹H e GPC do polímero, após sua precipitação em solvente adequado.

Tabela VI: Resultados para rendimento mássico, massa molar obtida por RMN ^1H e GPC, polidispersividade (PDI) e grau de modificação terminal obtido para as reações de polimerização.

Entrada	Rendimento mássico (%)	Mn_RMN_ ^1H (g.mol $^{-1}$)	Mn_GPC (g.mol $^{-1}$)	(PDI) M_n/M_w	Modificação (%)
1	-	-	-	-	-
2	42	2500	5500	1,4	50
3 ^a	86	800	800	1,4	76
4	73	1000	2500	1,3	53
5	85	2500	5000	1,4	75
6 ^b	58	1800	1100/1900 ²	1,9/1,8	60
7	29	1500	1500	1,5	70
8	40	2000	3030	1,2	50
9 ^a	68	850	870	1,7	70
10	80	1800	2400	2,6	34
11	-	-	-	-	-
12	83,4	1200	2700	2,5	-

^a Polímero precipitado em hexano.

^b Distribuição bimodal de massas molares.

Com os dados da tabela VI, observa-se que a reação 1 não apresentou formação de polímero. Como a temperatura para essa foi de 100 °C, ou seja, bastante baixa, pode-se especular que a energia fornecida ao sistema não tenha sido suficiente para levar à polimerização do lactídeo. Ou seja, considerando que a etapa reacional determinante é a coordenação, se essa não ocorrer, não haverá formação de produto. A não formação de polímero a baixa temperatura reacional está de acordo com o descrito na literatura. Todas as demais reações realizadas com temperatura de 140 °C apresentaram formação de polímero.

Drumright e colaboradores⁵⁰ relataram que PLA de alta massa molar é obtido por polimerização de lactídeo utilizando como catalisador Sn(Oct)₂ em temperaturas de 180 – 210 °C. Kricheldorf e Serra⁵¹ descreveram em 1985 que a temperatura ideal para a reação de polimerização de lactídeo com catalisador de Sn é entre 120 – 150 °C, a fim de obter o máximo de rendimento reacional. Esses dados da literatura conferem com os resultados obtidos

experimentalmente para as reações, onde não se obteve polímero para a reação realizada em temperatura abaixo de 140 °C.

Neste trabalho, como o polímero obtido é de baixa massa molar, a precipitação se mostrou difícil, o que ocasionou perda com consequente baixo rendimento mássico, como pode ser visto na primeira coluna da tabela VI.

Mesmo com a obtenção de polímero foi investigada a condição para otimização do rendimento de funcionalização terminal. Observa-se que, nas reações 3 e 9 (ambas com 2 horas de duração, 0,03 e 4 Sn/OH, respectivamente) a massa molar obtida foi baixa, tanto por análise de RMN ^1H , quanto por GPC. Porém, o grau de funcionalização do polímero obtido nessas reações foi elevado (cerca de 70 %). A dificuldade de manipulação dos polímeros de massa molar nessa faixa (abaixo de 1000 g/mol) excluiu a possibilidade de utilização desse material sintetizado, desconsiderando essas reações das demais discussões nessa sessão. Com a observação das reações realizadas com as mesmas condições de razão Sn/OH, porém com diferente tempo reacional, observa-se que o aumento do tempo leva a um aumento na massa molar do polímero obtido, devido a um favorecimento no crescimento da cadeia. As reações com 4 horas de duração (entrada 2, 5 e 8) apresentaram massas molares próximas à massa molar teórica (com relação a análise de GPC). O aumento da massa molar levou o polímero a apresentar um aspecto (sólido não gelatinoso) que permitiu sua utilização nos demais procedimentos experimentais.

Analisando ainda a tabela VI, fica evidente a influência da razão iniciador/catalisador (Sn/OH) sobre o percentual de funcionalização. Cada razão testada (0,03, 1 e 4) mostrou um percentual médio bastante similar dentre os tempos reacionais estudados (4 h, 2 h e 1 h) e o maior percentual de modificação encontrado foi para reações que utilizavam relação Sn/OH igual a 1 (percentual de alcino terminal de ~70 %).

Dentre as 3 reações realizadas com Sn/OH=1 (entradas 5, 6 e 7), observa-se que a reação com 4 horas de duração (entrada 5) apresentou o maior rendimento mássico (85 %) com relação as demais, além de apresentar a maior massa molar obtida por RMN ^1H e GPC. Portanto, esta foi a condição de escolha para a obtenção do polímero PLA funcionalizado terminalmente com grupo funcional propargila (PLA_alc) utilizado nas demais etapas deste trabalho.

É importante comentar o resultado obtido na entrada 12, pois ele torna necessário o cálculo do grau de modificação (Equação 4). Observou-se a formação de polímero mesmo sem a adição de iniciador ao meio reacional. A massa molar também apresentou valores similares

àqueles obtidos nas demais reações, nas quais foram adicionados o respectivo álcool (álcool propargílico). Esse resultado abre espaço para discussão acerca de uma possível hidrólise do $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, que poderia levar então a formação de um álcool ou alcóxido, espécie cataliticamente ativa para a ROP do lactídeo⁹. No caso das reações em que há o iniciador álcool propargílico, pode ter ocorrido a competição entre as duas espécies ativas (espécie cataliticamente ativa proveniente do iniciador desejado e da hidrólise do catalisador de estanho), e o polímero formado teria dois tipos de grupos terminais. A equação foi proposta nesse trabalho para minimizar o erro de se considerar que todo polímero formado possui o terminal propargila de interesse.

Os resultados de análise térmica do polímero foram obtidos por meio de calorimetria diferencial exploratória (DSC) e os resultados podem ser visualizados na Figura 12.

Foi encontrado valor de T_g de 16 °C para o polímero PLA_alc, evidenciada no segundo ciclo de aquecimento. O valor baixo de T_g para o polímero é explicado devido à sua baixa massa molar⁶, que acarreta em um aumento na mobilidade dos segmentos locais do polímero⁵², levando a um valor abaixo do esperado. Devido à ausência de T_c e T_m , foi possível comprovar que o polímero sintetizado se encontra no estado amorfo.

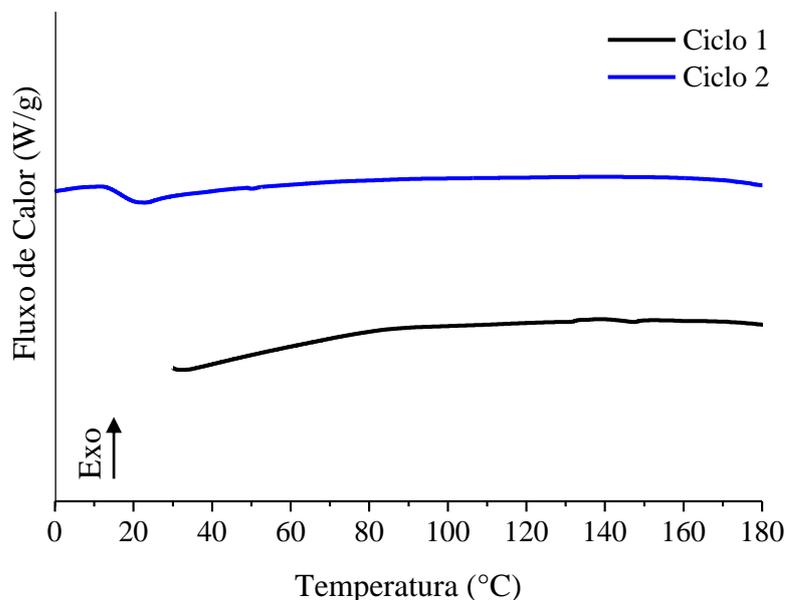


Figura 12: Termograma de DSC para o polímero PLA_alc.

5.2 NANOFIBRAS DE PLA E SUAS BLENDA

As nanofibras modificadas de PLA foram obtidas pela mistura de PLA puro de alta massa molar (PURAC, PLA_{am}) e PLA sintetizado de baixa massa (PLA_{alc}) em diferentes proporções, conforme tabela VII, a fim de obter a maior proporção possível de modificação superficial com relação à melhor morfologia de fibra. Para utilização da técnica de eletrofiação à temperatura ambiente, foi utilizada solução desses polímeros dissolvidos em diclorometano (CH₂Cl₂).

Tabela VII: Formulação das soluções de PLA_{am}/PLA_{alc} para eletrofiação.

Amostra	Concentração de polímero (% m/V)	PLA_{am} (%)	PLA_{alc} (%)
F_10/0	10	100	0
F_9/3	12	75	25
F_9/10	19	48	52
F_10/10	20	50	50

Abaixo, na tabela VIII, estão especificadas as condições de eletrofiação das soluções listadas na tabela VII, juntamente com as condições de temperatura e umidade para o dia em que a coleta da maior amostragem foi realizada.

Tabela VIII: Condições de eletrofiação estabelecidas experimentalmente para as soluções de PLA_{am}/PLA_{alc}.

Amostra	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)	Velocidade de alimentação (mL/h)	Distância agulha- coletor (cm)	Voltagem aplicada (kV)
F_10/0	22	44	0,5	15	12
F_9/3	21	41	0,5	15	10
F_9/10	21	49	0,25	15	16
F_10/10	23	55	0,5	15	16

A morfologia das fibras foi visualizada por microscopia eletrônica de varredura. Através das fotomicrografias obtidas para as nanofibras de poli(ácido lático) eletrofiadas, foi possível observar que a superfície é bastante porosa (representada pela fibra F_10/0, na Figura 13). Segundo Ramakrishna²⁴, a porosidade observada na superfície de nanofibras de PLA é uma característica própria desse polímero. Essa característica é muito interessante para sua aplicação principalmente na área de liberação controlada de fármacos. Conclui-se, portanto, que mesmo com a adição de polímero de baixa massa, não houve alteração na morfologia das mesmas, permanecendo a presença de poros individualmente nas nanofibras poliméricas.

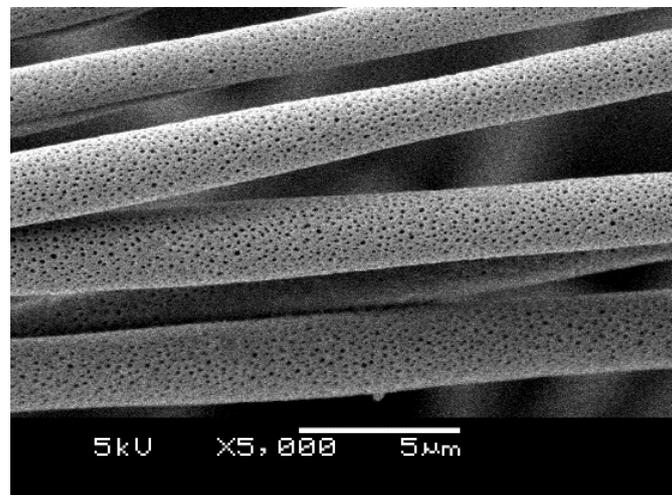
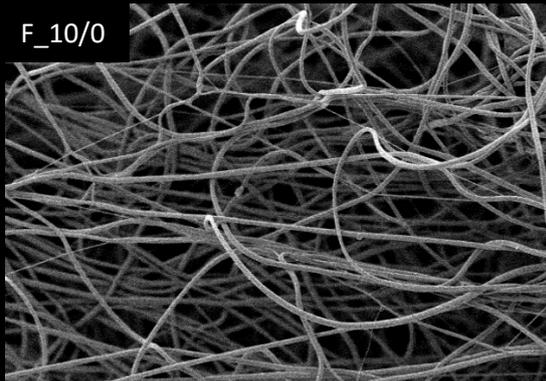


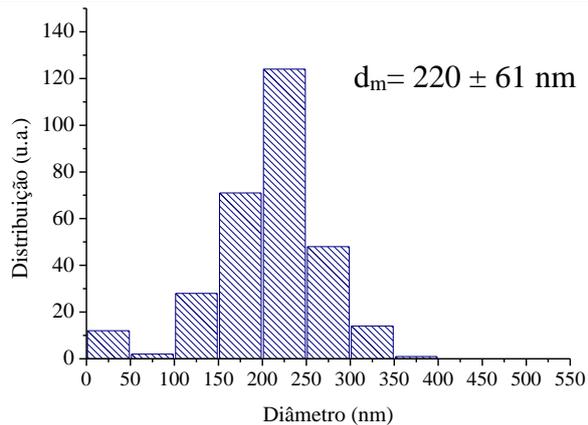
Figura 13: Micrografia obtida por MEV para a nanofibra de F_10/0.

Abaixo estão apresentadas as fotomicrografias que mostram a morfologia e distribuição aleatória das nanofibras obtidas e seus respectivos histogramas de distribuição de diâmetros (Figura 14):

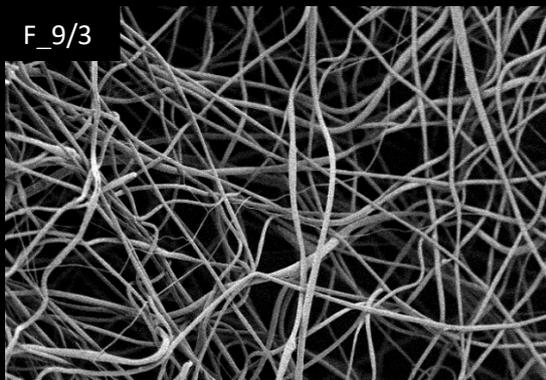
F_10/0



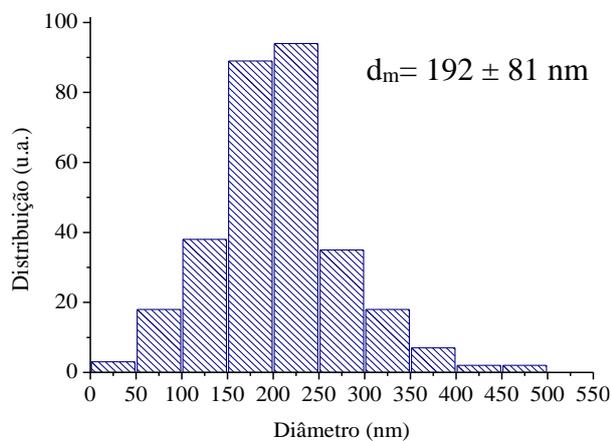
5 kV X500 50 μm



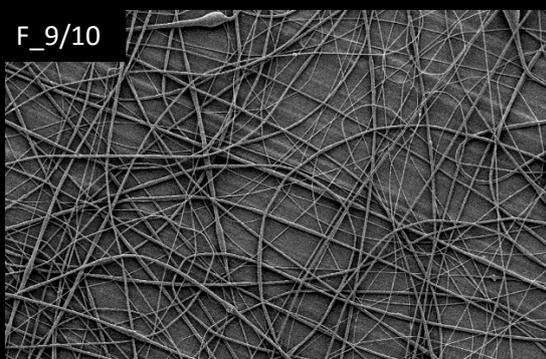
F_9/3



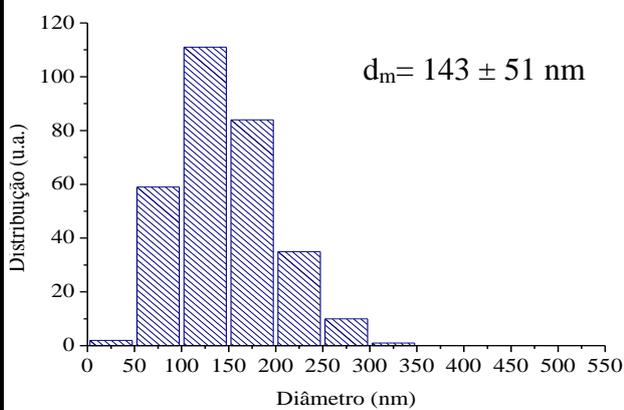
5 kV X500 50 μm



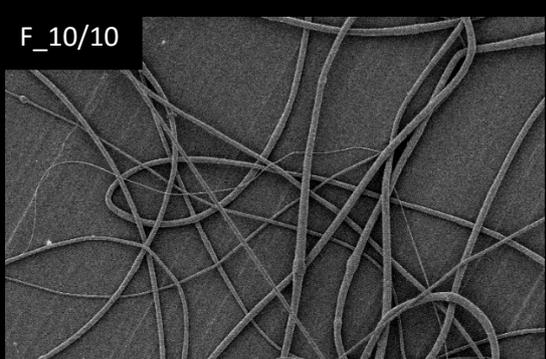
F_9/10



5 kV X500 50 μm



F_10/10



5 kV X500 50 μm

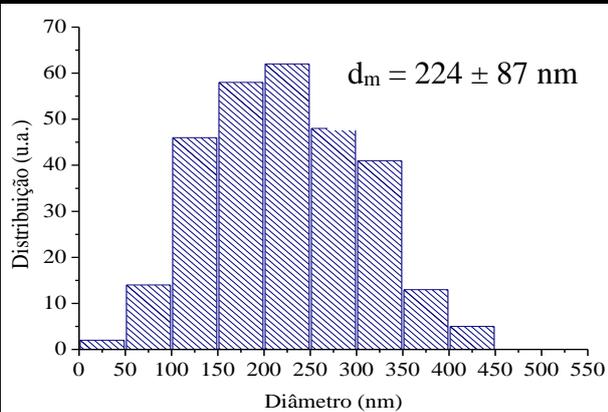


Figura 14: Micrografias obtidas por MEV para as amostras F_10/0, F_9/3, F_9/10 e F_10/10(esquerda) e histograma com distribuição dos diâmetros de fibras (direita).

Os histogramas apresentados na Figura 14 mostram uma mudança no padrão de distribuição de tamanho ocasionado pela adição de polímero de baixa massa molar à solução de polímero de alta massa. Esse comportamento diferenciado para as composições pode ser consequência das diferentes condições de eletrofiação que foram utilizadas para obtenção de cada fibra. Como discutido na sessão 2.2, condições como velocidade de alimentação da solução polimérica, distância entre seringa e coletor e voltagem, além de propriedades da solução, como viscosidade e concentração da solução¹⁹⁻²⁰ levam a alteração do diâmetro da fibra. Outro fator pode ser a instabilidade no jato provocada pela adição de polímero de baixa massa molar. Jatos instáveis provocam a ejeção de um jato primário e jatos secundários, os quais são capazes de contribuir para uma maior distribuição de tamanho no diâmetro das nanofibras

Na tabela IX se encontram dados de viscosidade das soluções de PLA e suas blends.

Tabela IX: Viscosidade das soluções de PLA_{am}/PLA_{alc}.

Fibra	Viscosidade (cP)
F_10/0	103
F_9/3	75
F_9/10	81
F_10/10	80

Com relação às soluções poliméricas, todas foram preparadas considerando uma concentração mássica (m/v) escolhida a partir de dados da literatura.^{23,53} Como se desejava adicionar o polímero de baixa massa molar, que possui o grupo terminal de interesse para o trabalho, o mesmo foi adicionado gradualmente à medida em que os parâmetros de eletrofiação da solução foram testados.

O aumento da fração de polímero de baixa massa molar em uma solução de polímero de alta massa molar ocasiona uma diminuição de viscosidade, diminui o emaranhamento entre as cadeias poliméricas e aumenta a mobilidade das mesmas²⁴, ao contrário do que se esperaria

caso a concentração da solução fosse aumentada pela adição de polímero de massa molar alta. Em concordância, a adição de polímero de baixa massa molar à solução polimérica provocou uma redução na viscosidade. No entanto, variações da concentração do polímero de baixa massa molar (tabela IX), não ocasionaram mudanças no valor de viscosidade, a qual permaneceu praticamente constante (~ 80 cP).

Com a adição de polímero de baixa massa e a diminuição da viscosidade das soluções poliméricas (F_9/3, F_9/10 e F_10/10), o jato durante a eletrodição apresentou maior instabilidade, ocasionando nanofibras com maior número de *beads* alongados, como representado pela fotomicrografia da amostra F_9/3 (Figura 15).

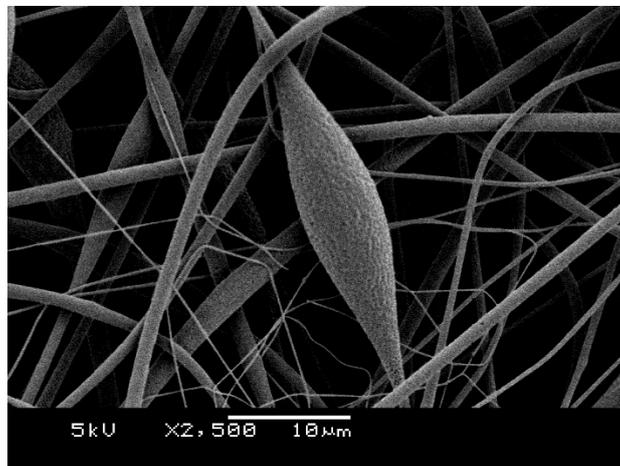


Figura 15: Micrografia da nanofibra F_9/3.

Com relação aos parâmetros associados ao processo de eletrofição, foi observado que o fator que mais alterou o tamanho da fibra (dados expostos na tabela X) foi o fluxo no qual a solução foi eletrofiada. A solução F_9/10, que foi eletrofiada em fluxo mais baixo ($0,25$ mL/h) apresentou deslocamento do diâmetro médio (d_m) das fibras para valores menores (entre 143 ± 51 nm, respectivamente), enquanto que as nanofibras que foram eletrofiadas em fluxo de $0,5$ mL/h possuíam diâmetro médio maiores.

Tabela X: Diâmetro médio obtido para as nanofibras.

Fibra	Diâmetro médio (d_m, em nm)
F_10/0	220 ± 61
F_9/3	192 ± 81
F_9/10	143 ± 51
F_10/10	224 ± 87

Esse efeito pode ser explicado uma vez que um fluxo de alimentação alto leva a um estiramento do jato polimérico menos eficiente, levando a fibras com diâmetro maior. Isso ocorre pois não há tempo suficiente para que o polímero estire durante o percurso que ele percorre até o coletor. Com relação à voltagem, não foi observada correlação de parâmetro entre a distribuição de tamanho e a voltagem empregada no processo.

Demais fotomicrografias obtidas por MEV das nanofibras de PLA e suas misturas com PLA funcionalizado se encontram no Anexo 2 deste documento. Como as soluções foram eletrofiadas em dias diferentes, e devido ao elevado volume de solução necessário para produzir uma matriz de nanofibras que pudesse ser removida inteira do coletor (aproximadamente 15 mL), foi observada a presença de muitos *beads*, possivelmente em decorrência das diferentes condições ambientais ao longo dos dias em que a solução era eletrofiada (temperatura ambiente e umidade).

5.3 ANÁLISE DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DOS POLÍMEROS E NANOFIBRAS

As análises do comportamento térmico dos polímeros utilizados nesse trabalho (PLA_{am} e PLA_{alc}) e das nanofibras obtidas foram realizadas por técnicas de análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). A técnica de TGA nos mostra informações sobre a temperatura em que há perda de massa. Já o DSC reflete a mudança na capacidade calorífica das amostras em função da temperatura, pela medida do fluxo de calor

requerido para manter em zero, a diferença de temperatura entre um material de referência inerte e a amostra a ser analisada.¹⁰

O processamento de um polímero através de eletrofiação pode ocasionar modificações em relação à cristalinidade estrutural do mesmo. Ramakrishna e colaboradores²⁴, discutem a interferência dos parâmetros experimentais da técnica de eletrofiação na mudança da organização das cadeias poliméricas. A voltagem aplicada e a distância entre coletor e seringa podem afetar o ordenamento das cadeias poliméricas nas fibras durante o processo de estiramento das mesmas,⁵⁴ pois é nesse momento que se dá a secagem do solvente.

No caso de utilização de disco ou de tambor como coletores no processo de eletrofiação, a velocidade de rotação tem grande importância no ordenamento das cadeias poliméricas. Há relação entre o aumento da velocidade de rotação com o aumento do estiramento do jato polimérico, podendo levar a uma maior cristalinidade da nanofibra coletada ao final do processo.⁵⁵

Levando em consideração os fatos acima citados, torna-se interessante estudar o comportamento térmico dos polímeros e das nanofibras obtidas, para avaliar possíveis variações de cristalinidade durante o processamento do material.

A tabela XI mostra os resultados obtidos para a temperatura máxima de perda de massa nas análises de TGA realizadas para o PLA_am, PLA_alc e as nanofibras. Todas as amostras mostraram apenas um estágio de perda de massa, o que é esperado, uma vez que todos materiais apresentam apenas uma espécie polimérica ou blenda do mesmo polímero com diferente massa molar.

Tabela XI: Dados de análise térmica (TGA) para o polímero puro e as nanofibras obtidas no processo de eletrofiação.

Polímero/material	Temperatura de máxima perda de massa (°C)	Massa residual (%)
PLA_am	366	0,4
PLA_alc	262	6,1
F_10/0	343	0,5
F_9/3	262	3,9
F_9/10	260	4,8
F_10/10	260	4,5

No resultado obtido na análise de TGA, observa-se que o polímero sintetizado nesse trabalho (PLA_alc) apresenta uma temperatura máxima de perda de massa menor que o polímero comercial de alta massa molar.

Diversos artigos descrevem a ação do Sn(Oct)₂ como catalisador para a transesterificação do PLA ou como catalisador para a eliminação de lactídeo⁵⁶⁻⁵⁷, o que explica a redução da estabilidade térmica do PLA_alc. Este fato também explica a redução da estabilidade térmica das nanofibras com polímero PLA_alc. uma vez que possuem fração mássica desse polímero em sua composição.

Observa-se também que o polímero PLA_alc apresenta uma massa residual de 6 %, maior que a massa residual do PLA_am, que pode ser justificada pela presença do catalisador Sn(Oct)₂ residual do processo de polimerização, como já sugerido devido à menor temperatura máxima de perda de massa obtida. Essa maior massa residual também foi obtida para as fibras que continham polímero PLA_alc (F_9/3, F_10/9 e F_10/10).

Pela análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi possível investigar os efeitos do processo de eletrofiação no polímero. Para isso, foram analisados os dois ciclos de aquecimento aos quais as amostras foram submetidas. O primeiro ciclo de aquecimento pode fornecer informações sobre os efeitos do processamento da amostra (neste caso, o processo de eletrofiação) sobre o comportamento térmico.

Quando a T_g é atingida no experimento, o gráfico apresenta uma mudança na linha de base, referente a mudança na capacidade calorífica. Como a T_g não possui calor latente

envolvido, é chamada em transição de segunda ordem. As demais transições, como cristalização (T_c) e fusão (T_m), que envolvem calor latente, são consideradas transições de primeira ordem.

Acima da T_g , as cadeias poliméricas são muito mais móveis e se movem de forma mais ordenadas do que abaixo da T_g . Com a organização do sistema, ocorre liberação de calor e um pico exotérmico referente a cristalização do sistema será originado. Com o aumento da temperatura, o material absorve calor e se funde em um material amorfo, dando origem a um pico endotérmico.⁴⁹ Com relação a materiais amorfos, não se espera encontrar picos referentes a T_c e T_m , apenas informação relativa a T_g .

Analisando os resultados obtidos durante o primeiro ciclo de aquecimento para as nanofibras, é possível observar a presença de dois picos endotérmicos (Figura 16). O pico em torno de 60 °C nas nanofibras possivelmente é gerado devido a tensão aplicada às soluções durante o processo de eletrofição. Este processo ocasiona alinhamento das cadeias de polímero.⁵⁸ Esse alinhamento é gerado durante o estiramento do jato polimérico, que “força” as cadeias a assumirem uma conformação mais alongada, menos estável.⁵⁹ Ou seja, o processo de cristalização nas cadeias poliméricas nas nanofibras é ocasionado devido a orientação das cadeias poliméricas durante o processo de aquecimento.²⁶

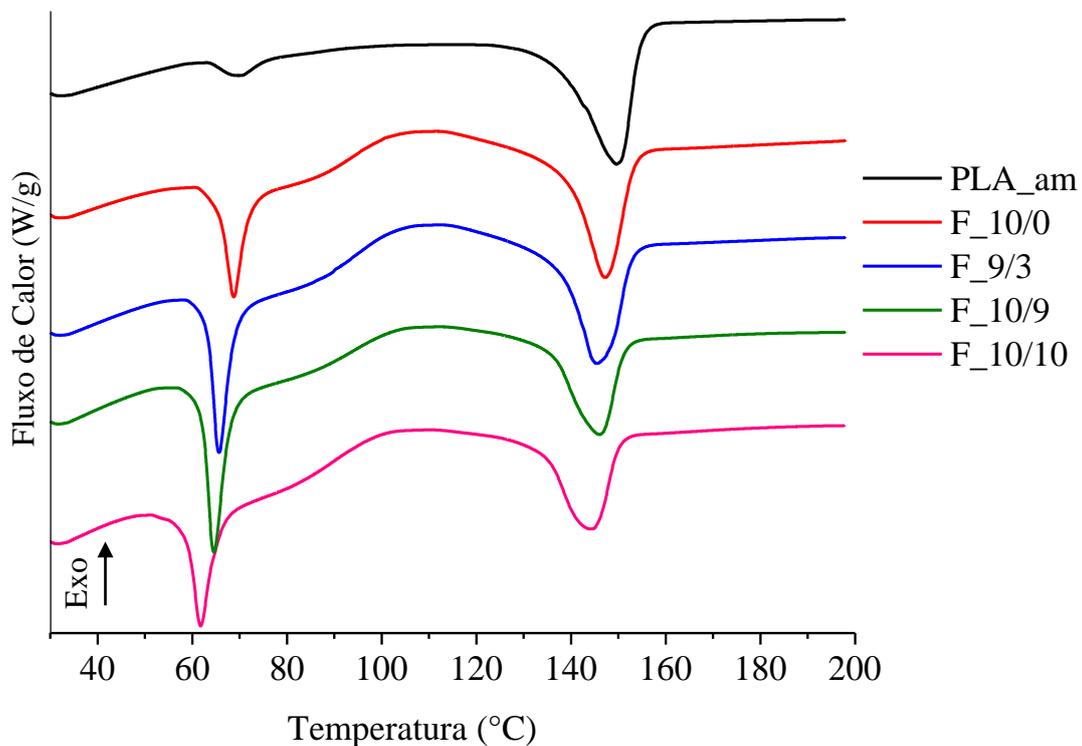


Figura 16: Termogramas de DSC (primeiro ciclo de aquecimento) para as amostras para a amostra de PLA_am e nanofibras em diferentes composições.

O alinhamento induzido pelo estiramento no processo de eletrofiação não deve ser confundido com ordenamento na forma de uma estrutura cristalina do polímero. Wang e colaboradores⁵⁹ provaram por Difração de Raio-X de Alto Ângulo (do inglês, WAXD) que nanofibras de PDLA são amorfas.

A não cristalinidade das nanofibras pode ser explicada devido à alta taxa de alongação nos estágios finais do processo de eletrofiação, que impedem a formação de zonas cristalinas ou, em outras palavras, o polímero não tem tempo suficiente de se organizar em uma estrutura cristalina antes de solidificar.²⁶

Segundo Gamba⁵⁸, quando a energia armazenada do processo de eletrofiação é liberada através do pico de relaxação, ocorre a indução de formação de zonas cristalinas. Esse fato é evidenciado então no pico em, aproximadamente, 110 °C. Observa-se que quanto maior a fração de polímero de menor massa molar na blenda, mais baixa é a temperatura de cristalização, pois o mesmo age como agente nucleante.

A análise da amostra PLA_am foi realizada para fim de comparação, porém não será comentada uma vez que o polímero é comercial e não se tem informação sobre sua história térmica.

Outro fato que comprova a não cristalinidade das nanofibras obtidas é o valor das entalpias de cristalização e fusão encontradas para o primeiro ciclo de aquecimento (tabela XII). Como os valores são similares, pode-se dizer que todos cristais fundidos durante a análise foram formados durante o aquecimento da amostra.⁵⁸

Tabela XII: Entalpias de cristalização (ΔH_c) e fusão (ΔH_f) referentes ao primeiro ciclo de aquecimento das nanofibras de PLA.

Amostra	ΔH_c (J/g)	ΔH_f (J/g)
F_10/0	14,8	24,1
F_9/3	21,7	23,9
F_9/10	11,3	14,7
F_10/10	21,7	18,3

Com a análise dos termogramas relativos do segundo ciclo de aquecimento (Figura 17), é interessante observar que as nanofibras que apresentavam adição de polímero de baixa massa molar (F_9/3, F_10/9, F_10/10) apresentam menores temperaturas de transição vítrea que a fibra F_10/0. Como a transição vítrea está relacionada ao movimento cooperativo de segmentos de 100-50 cadeias poliméricas⁶⁰, pode-se dizer que cadeias de baixa massa molar terão uma maior mobilidade que as cadeias de massa molar mais elevada. Em outras palavras, nas soluções poliméricas/nanofibras onde houve adição de polímeros de baixa massa molar, houve também uma maior mobilidade das cadeias devido a inserção de cadeias de baixa massa molar às blendas. Esse efeito da mobilidade ocasiona a diferença de T_g observada na Figura 13 (sessão 5.1), onde PLA_alc possui T_g em torno de 16 °C, mais baixa do que a obtida para o polímero PLA_am (64 °C).

É importante salientar que neste segundo ciclo de aquecimento nenhuma amostra analisada apresentou pico endotérmico referente a fusão, ou exotérmico referente a cristalização, este fator reforça o que já foi explicado anteriormente, onde a cristalinidade observada no primeiro ciclo de aquecimento das amostras somente foi gerada pelo alinhamento das cadeias poliméricas no processo de eletrofiação.

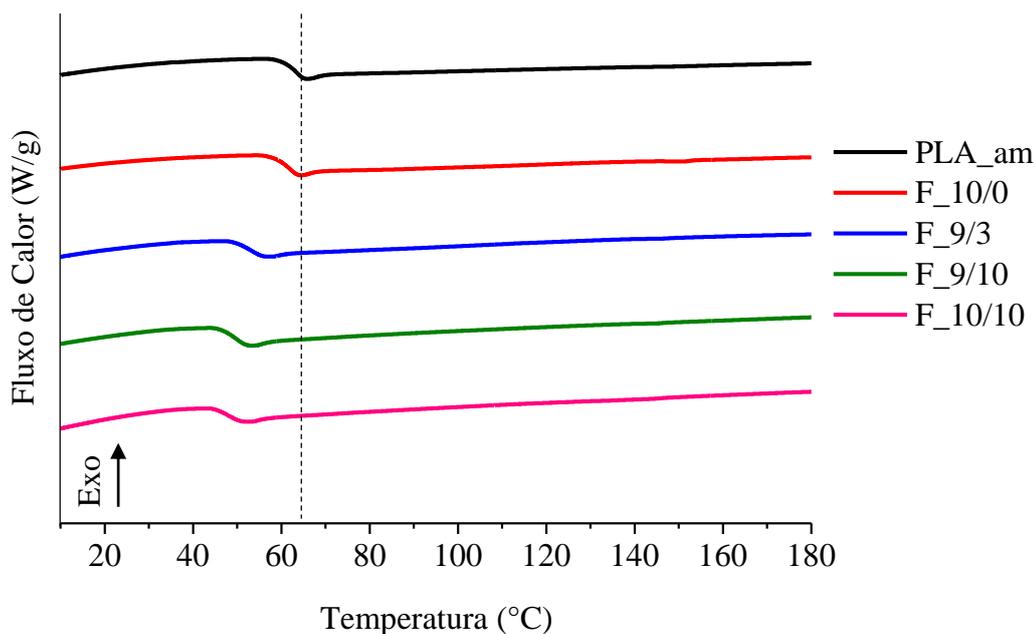


Figura 17: Termograma de DSC referente ao segundo aquecimento das amostras de PLA_am e nanofibras.

Na tabela XIII estão os dados referentes às temperaturas características dos polímeros e das nanofibras obtidas por eletrofiação. Os índices 1 e 2 se referem ao primeiro e ao segundo ciclos de aquecimento das amostras durante a análise de DSC. O dado referente a cristalinidade se referem apenas ao segundo ciclo de aquecimento.

Com o aumento do percentual de polímero de baixa massa molar, houve uma diminuição gradual do percentual de cristalinidade nas nanofibras, uma vez que o aumento da concentração de polímeros com massa molecular menor, torna mais difícil a organização do sistema, tornando-o assim, menos organizado.

Tabela XIII: Temperatura de transição vítrea, cristalização e fusão para o primeiro e segundo ciclo de aquecimento das amostras de PLA_am, PLA_alc e suas blendas.

Amostra	T ₁ (°C) ^a	T _{g2} (°C) ^a	T _{c1} (°C) ^a	T _{m1} (°C) ^a	χ ₁ (%) ^{a,b}
PLA_am	64,03	63,42	-	137,47	27,0
PLA_alc	-	16,35	-	141,14	-
F_10/0	65,41	61,92	110,90	146,96	25,9
F_9/3	65,40	53,00	107,00	145,07	25,7
F_9/10	62,11	49,90	106,69	145,80	15,8
F_10/10	58,78	47,78	103,62	144,01	19,7

^a O índice 1 e 2 se referem aos ciclos 1 e 2 de aquecimento da amostra, respectivamente.

^b A cristalinidade da amostra foi calculada com a fórmula $\chi = (\Delta H_f / \Delta H_f^\circ) \times 100$, onde $\Delta H_f^\circ = 93,1 \text{ J/g}^{59}$.

5.4 SÍNTESE DE RODAMINA-B FUNCIONALIZADA COM GRUPO FUNCIONAL AZIDA

A rodamina B (Figura 18) é um xanteno derivada de *m*-aminofenol alquilado. Essa classe de compostos apresenta elevada fluorescência.⁶¹

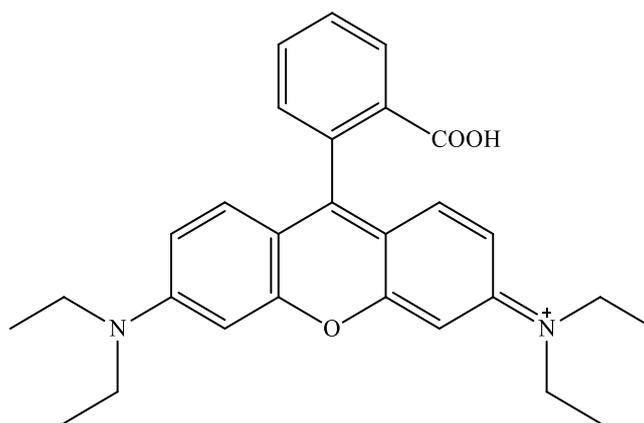


Figura 18: Estrutura química da Rodamina-B.

Esse corante é um fluoróforo amplamente utilizado devido a seu baixo custo e sua elevada fotoestabilidade.⁶² Além dessas vantagens, a rodamina B é solúvel tanto em água quanto em solventes orgânicos, como THF e CH₂Cl₂, o que é interessante para os procedimentos experimentais.⁴⁵ O ácido benzoico livre possibilita derivatização via reação de esterificação, tornando essa molécula muito versátil para diversos usos.⁶²

A versatilidade desse corante, juntamente com a facilidade de funcionalização fizeram com que fosse escolhido para auxiliar na quantificação de grupos alcinos na superfície das nanofibras funcionalizadas. A proposta consentiu em funcionalizar o corante rodamina B com 3-azido-1-propanol, a fim de promover reação de cicloadição *click* com grupo funcional alcino presente na fibra e, dessa forma, quantificar os grupos funcionais reativos no material nanométrico obtido por meio de análise de absorção na região do UV-Vis. Nessa sessão, serão caracterizados os compostos 3-azido-1-propanol e ROD-N₃.

5.4.1 3-azido-1-propanol

O álcool propílico funcionalizado com grupo azida foi sintetizado como descrito na sessão 4.3, obtendo-se cerca de 60 % de rendimento. Utilizou-se meio básico para promover a substituição dos grupos cloro pelo grupo azida desejado, como ilustrado na Figura 19. O produto foi analisado por RMN ¹H (Figura 20) e RMN ¹³C.

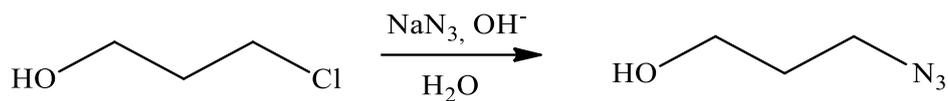


Figura 19: Reação de substituição para obtenção de 3-azido-propanol.

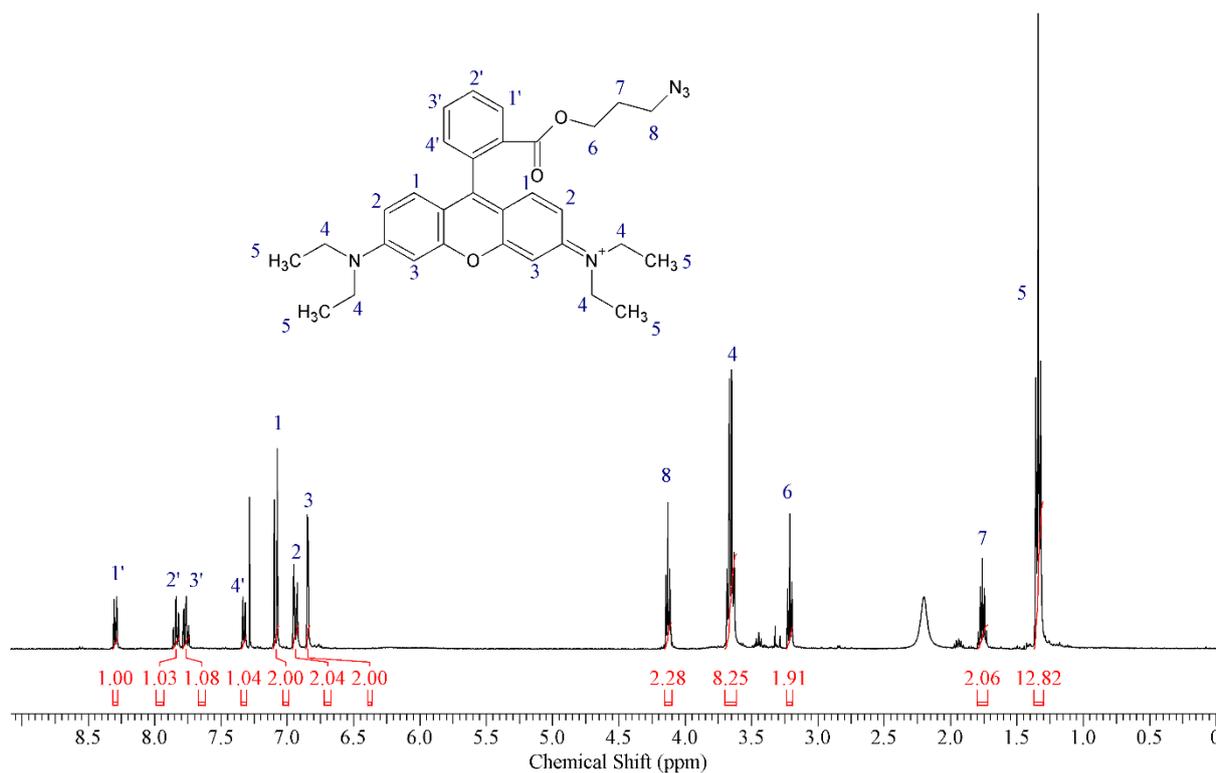


Figura 20: Espectro de RMN ^1H do composto 3-azido-1-propanol (400 MHz, CDCl_3).

O resultado obtido para a análise de RMN ^1H comprova que a síntese do composto de interesse foi bem-sucedida.

O composto 3-azido-propanol também foi analisado por infravermelho, para comprovar a reatividade com o grupo azida, obtendo-se um pico largo em aproximadamente 2300 cm^{-1} , característico de grupo azida

5.4.2 Rodamina-B funcionalizada com azida

A Rodamina-B funcionalizada com azida (ROD-N₃) foi sintetizada por duas rotas sintéticas distintas. Com ambas, foi possível obter a Rodamina-B derivatizada com 3-azido-1-propanol, porém o método de obtenção Rod-02 se mostrou de mais fácil manipulação experimental por não necessitar de atmosfera inerte para a realização da reação.

Ambas reações apresentaram baixo rendimento reacional devido a perdas no processo de purificação (~50%) ocasionada pela solubilidade da rodamina. DMAP é uma base nucleofílica eficiente como catalisador para esterificação de álcoois e anidridos⁶³. EDC e DCC, são utilizados em ambos casos como agente ativantes⁶⁴, para formação do derivado anidrido da rodamina B, que então reagirá com o DMAP (esterificação de Steglich), reação ilustrada na Figura 21.

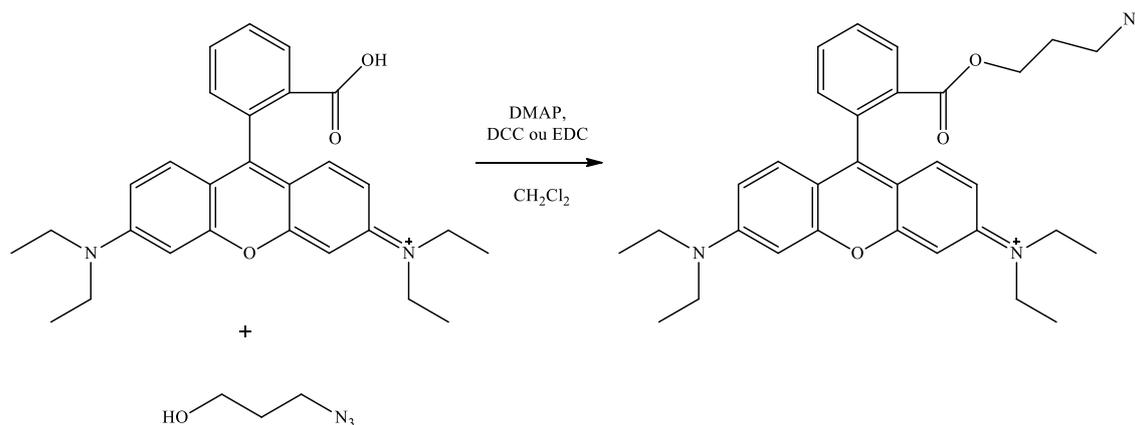


Figura 21: Reação de esterificação entre Rodamina B e 3-azido-propanol, catalisada por DMAP e auxiliada por DCC ou EDC.

A análise de RMN ¹H mostrou que a funcionalização foi realizada de maneira bem-sucedida, como pode ser comprovado na Figura 22.

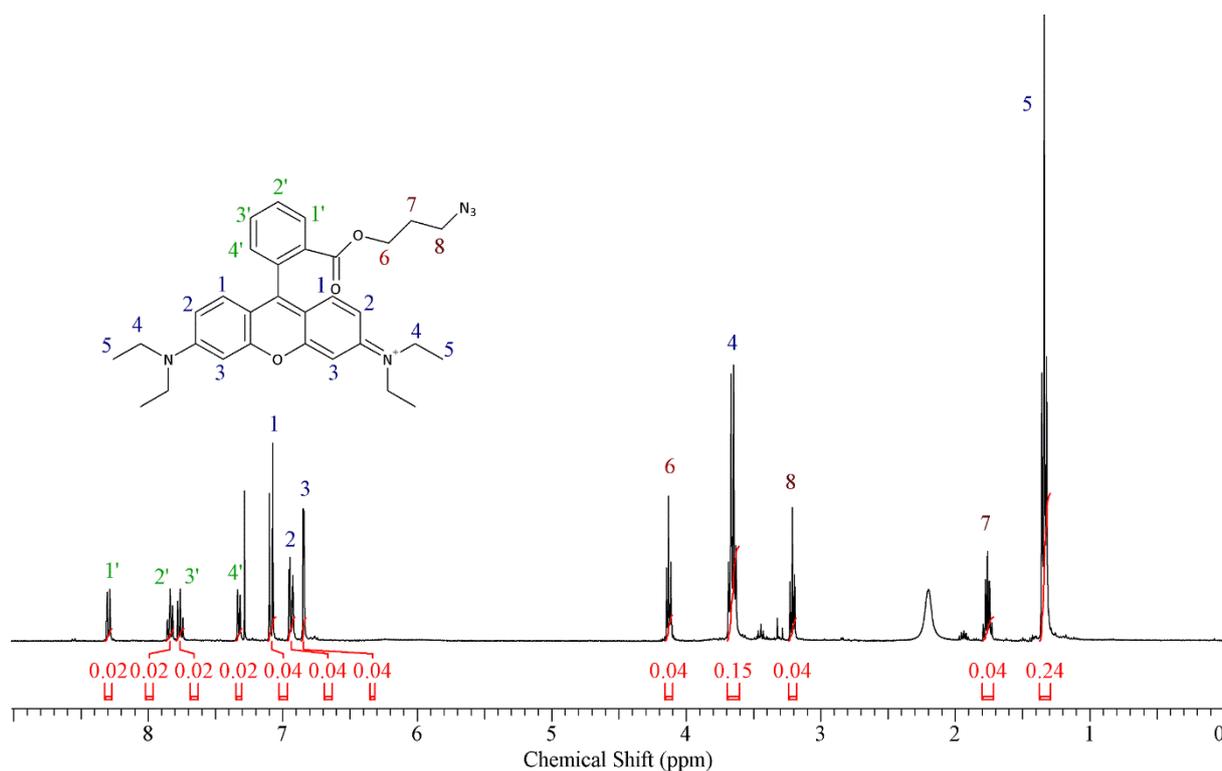


Figura 22: Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) obtido para a ROD-N₃ obtida pela metodologia Rod-02.

Todos os picos relacionados no espectro estão de acordo com os artigos publicados com derivados semelhantes nos quais os métodos sintéticos foram baseados⁴⁵⁻⁴⁶ e, principalmente, de acordo com o espectro descrito por Ramos e colaboradores⁶¹ que descrevem o espectro de RMN ¹H de derivados esterificados de Rodamina-B comercial.

A análise de infravermelho foi realizada a fim de verificar a funcionalização do composto e o espectro obtido está na Figura 23.

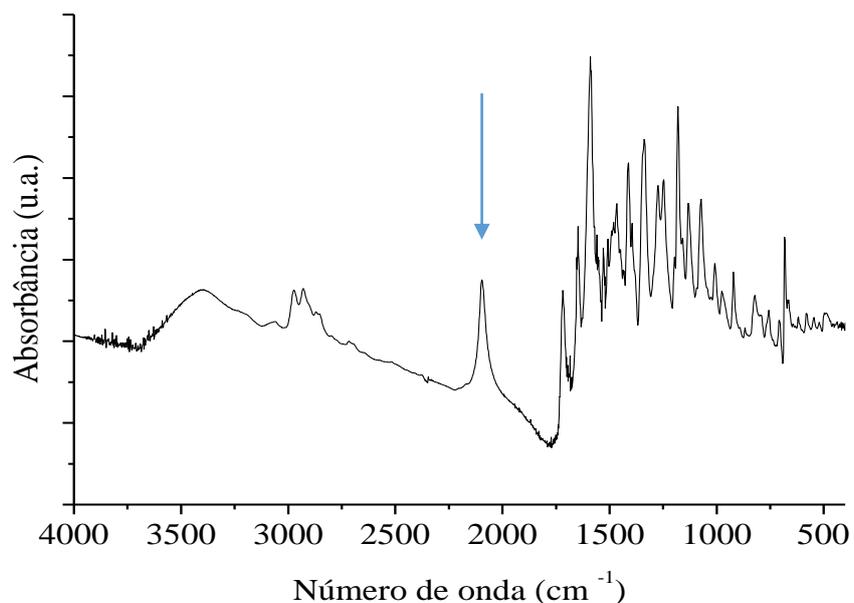


Figura 23: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr da ROD-N₃. No espectro, encontra-se indicado com uma seta a banda referente ao grupo azida.

A partir do espectro de infravermelho (Figura 24), é possível comprovar a ligação do grupo azida com o corante rodamina-B, pois o pico característico do grupo funcional azida é facilmente encontrado em, aproximadamente, 2100 cm⁻¹.⁴⁶

A análise de espectroscopia na região do UV-Vis foi realizada para verificar se, em consequência da derivatização da molécula, havia ocorrido mudança no comportamento da molécula com relação ao comprimento de luz que a mesma absorvia. De acordo com Staff⁴⁵, a reação da Rodamina-B com azido-etanol não ocasiona alteração no comportamento da molécula com relação à absorção de luz e quanto a emissão de fluorescência da molécula. O espectro de UV-Vis e de fluorescência obtido para a molécula sintetizada está na Figura 25.

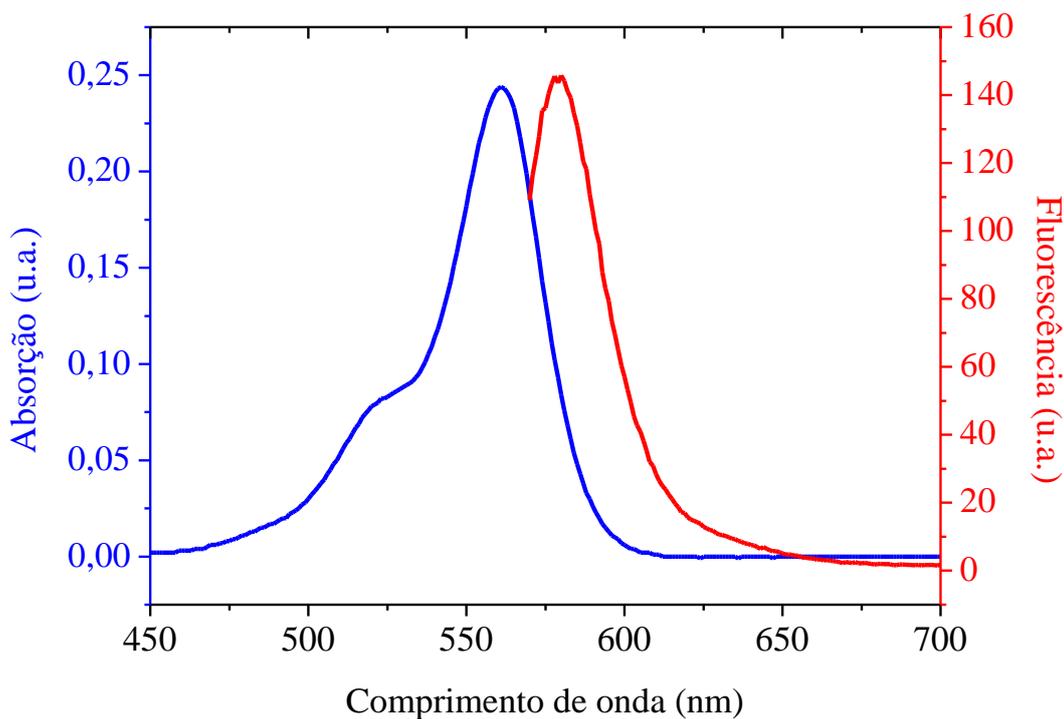


Figura 24: Espectro de absorção e emissão para a ROD-N₃.

Os espectros apresentados na Figura 24 acima estão de acordo com os dados apresentados na literatura para o máximo de absorção e emissão da Rodamina B, sendo esses valores de 560 e 580⁴⁵⁻⁴⁶ nm, respectivamente. Isso comprova que a funcionalização não modifica as propriedades de fluorescentes do corante.

5.5 QUANTIFICAÇÃO DOS GRUPOS FUNCIONAIS ATIVOS NA NANOFIBRA

Essa análise foi fundamental para verificar se os grupos funcionais terminais presentes no polímero de baixa massa molar se encontram no interior da nanofibra, ou expostos (no exterior da fibra), como é de interesse, conforme ilustrado na Figura 25.

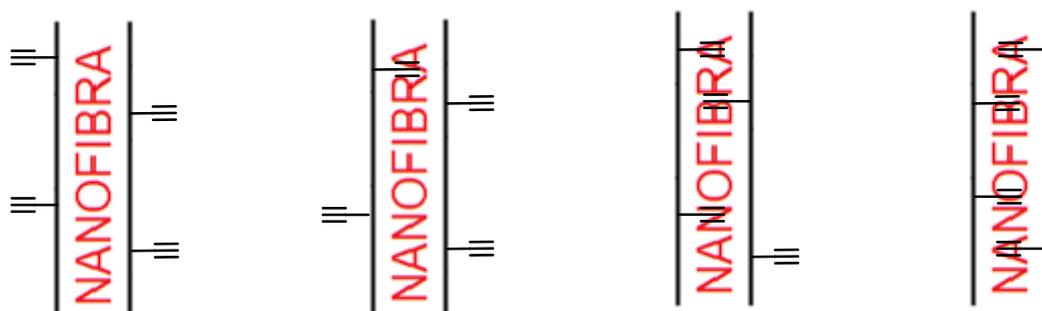


Figura 25: Possibilidades de localização dos grupos funcionais alcino após eletrofiação. Na imagem à esquerda, completamente expostos ao exterior, e à direita, completamente no interior da fibra.

A disposição dos grupos funcionais da fibra pode depender de dois fatores: cinética de evaporação e polarização. Lancuški e colaboradores⁴² estudaram a funcionalização superficial de um sistema semelhante ao estudado nesse trabalho. Neste trabalho, PCL-diol foi funcionalizado com terminal azida e, juntamente com PCL de alta massa molar, foi submetido ao processo de eletrofiação. Para avaliar a disposição dos grupos funcionais azida na nanofibra de PCL, os autores utilizaram o método colorimétrico, através da reação *Click* com FITC-alcino. Para fins de comparação, também realizaram medidas semelhantes em filmes feitos por técnica de *casting*. Obtiveram como resultado cerca de 20 % dos grupos azida se encontravam na superfície, no caso de filmes obtidos por *casting*, onde o efeito principal é relativo à evaporação lenta do solvente, ou seja, sem interferência de efeitos eletrostáticos de campo elétrico induzidos pelo processo de eletrofiação. Já para o caso de nanofibras, cerca de 80 % dos grupos azida se encontravam na superfície.

Para as nanofibras, a evaporação do solvente é extremamente rápida, cerca de milissegundos, e a migração dos grupos funcionais para a interface ar/solução é dificultada pelo aumento da viscosidade da solução, sendo apenas parcial. Sendo assim, pode-se considerar que o efeito da atração interfacial na disposição dos grupos funcionais ao longo da fibra é de menor importância.

Para o caso da eletrofiação, a voltagem aplicada pode levar segregação de grupos funcionais polarizáveis, devido a interações eletrostáticas, o que pode ser melhor visualizado na Figura 26. Como a diferença entre grupos azida nos materiais obtidos por *casting* e por

eletrofiação foi de 60 %, no trabalho de Lancuški, pode-se considerar que o efeito principal que rege a posição dos grupos funcionais ao longo da nanofibras é de caráter eletrostático, induzido pela voltagem aplicada entre a agulha e o coletor.⁴²

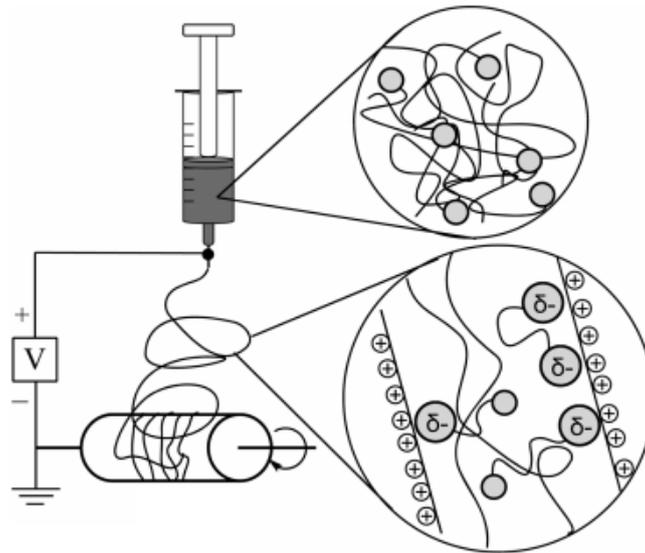


Figura 26: Polarização induzida pela voltagem aplicada durante o processo de eletrofiação, ocasionando segregação de grupos funcionais polarizáveis no “corpo” da nanofibra obtida. Adaptada de Lancuški e colaboradores⁴².

O efeito da polarização no processo de eletrofiação não se limita a pequenas moléculas. Em 2007, Sun et al.⁶⁵ publicaram um artigo que relatava o efeito da atração eletrostática sobre peptídeos polarizáveis em nanofibras e polímeros eletrofilicos.

Um fator importante apresentado em todos os artigos que tratam sobre o efeito da atração eletrostática sobre a segregação de grupos funcionais no processo de eletrofiação é a disposição dos eletrodos em relação à polarização esperada pela molécula alvo da separação.^{42,45,65-66} Por exemplo, no caso de uma molécula que possua o grupo C-X (X sendo um halogênio), escolher-se-ia como eletrodo para a agulha, o pólo positivo (cátodo), tornando a solução polarizada positivamente, levando o grupo funcional de interesse para a superfície. No caso apresentado por Fu e colaboradores⁶⁶, a inversão de cátodo e ânodo entre agulha e coletor acarretou em distribuição randômica de grupos funcionais polarizáveis ao longo da nanofibra.

Considerando os fatos expostos acima e levando em consideração o sistema estudado, algumas considerações devem ser feitas. Primeiramente, o grupo funcional que se tem interesse que esteja exposto na superfície da nanofibra é o grupo alcino, ou seja, um composto orgânico com uma tripla ligação entre átomos de C ($-C\equiv C$). Carbonos que possuem ligações triplas possuem hibridização sp, possuindo um maior caráter s quando comparado com carbonos com ligação simples (hibridização sp³). O maior caráter s da ligação tripla torna esses carbonos mais eletronegativos, uma vez que esses orbitais possuem maior aproximação com o núcleo positivamente carregado. Essa característica irá modular o processo de eletrofiliação, que será realizado a fim de obter com maior sucesso uma nanofibra com o grupo funcional exposto na superfície. Desta forma, escolheu-se utilizar como pólo positivo (cátodo) o terminal da fonte conectado a agulha e, como pólo negativo (ânodo), o terminal conectado ao coletor, tendo-se um sistema similar ao da Figura 27.

Obtendo-se a nanofibra funcionalizada, o método escolhido para a comprovação da reatividade dos grupos funcionais alcino no material processado foi por meio de reação com corante sintetizado ROD-N₃, utilizando sistema catalítico de Cu (II) e ascorbato de sódio. A reação com um corante permite verificar a reação e possibilita quantificá-la por meio de medida do espectro de UV-Vis, através da medida da absorbância da corante reagido, utilizando uma curva de calibração adequada que relaciona a concentração do corante e a absorbância do mesmo, de forma similar à encontrada na literatura.^{42,45}

Para ser possível quantificar a concentração de moléculas de corante quimicamente ligadas à nanofibra, foi necessário primeiramente construir uma curva de calibração que relaciona a concentração do corante *versus* absorbância da solução de ampla gama de concentrações. Outro fator importante é que a curva de calibração teve de ser feita em THF, pois uma das etapas da quantificação envolve a dissolução da nanofibra, o que não seria possível em solução aquosa devido à insolubilidade do polímero. O solvente THF foi escolhido por possibilitar uma boa dissolução da nanofibra, sem alterar as propriedades do corante.⁴⁵ As concentrações medidas devem ser suficientes para que a curva abranja todos os possíveis valores obtidos nos experimentos de quantificação e os valores de R² devem ser superiores a 0,99 a partir do ajuste da equação da reta, observando-se que o coeficiente linear da reta deve ser, idealmente, igual a zero.

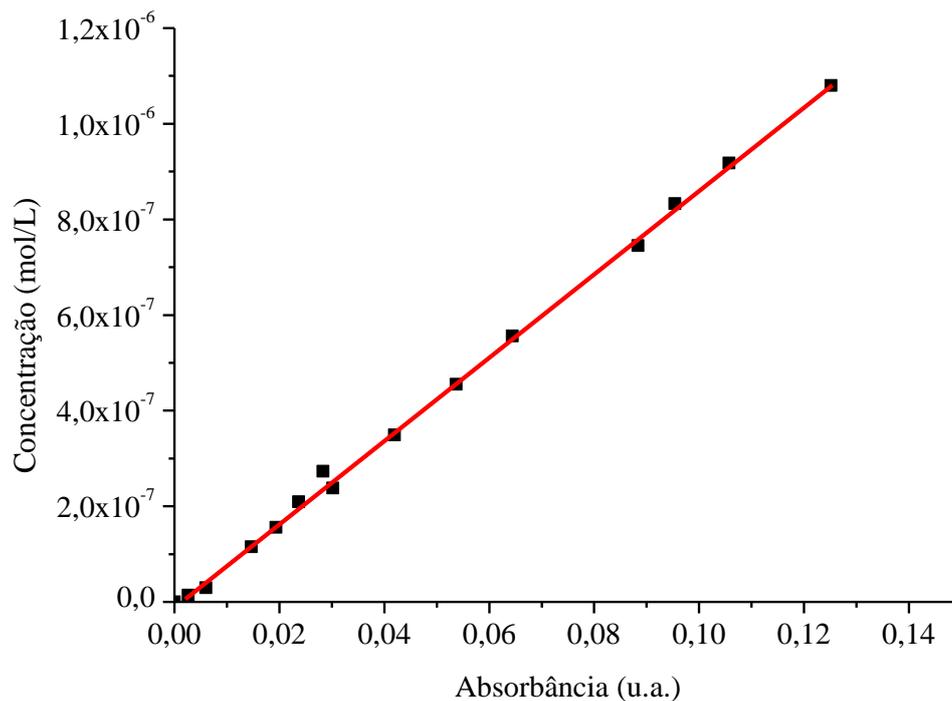


Figura 27: Curva de calibração que relaciona a absorvância de uma solução de THF com a concentração de corante ROD-N₃.

A curva de calibração da Figura 27 gerou então a equação 5 abaixo.

$$y = 9E-06x - 8E-09 \quad R^2 = 0,9986 \quad \text{Eq. 5}$$

Aplicando a equação 5 aos valores de absorvância obtidos em x, obtém-se como y os valores em mol/L de Rodamina-B (ROD-N₃) quimicamente ligadas à matriz, que por sua vez é equivalente à concentração de alcino reagida. A partir de dados como massa de fibra reagida e percentual de modificação, podem ser encontrados os valores de concentração de mol de alcino por grama de fibra (mol/g), e também de eficiência de modificação superficial que se obteve.

A eficiência de modificação é um valor que relaciona a quantidade de polímero PLA_{alc} com a massa de fibra, estimando um valor máximo de grupos alcino no material, com o número de mols de ROD-N₃ reagidas, permitindo assim ser chamado de eficiência de modificação da superfície.

Foram realizados testes para otimização de metodologia, como descrito na sessão 4.5 de acordo com a disponibilidade de amostras. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela XIV. Como a nanofibra de PLA apresenta uma estrutura naturalmente porosa, parte do corante poderia ficar adsorvido na nanofibra de PLA. Portanto, foi realizado um teste em branco para as nanofibras no meio reacional, sem adição do sistema catalítico, a fim de reduzir o erro ocasionado pela Rodamina B funcionalizada não reagida (apenas adsorvida). O valor obtido para o branco foi subtraído.

Tabela XIV: Resultados obtidos para os testes de otimização das condições reacionais para a reação CuAAC entre PLA_{alc} e ROD_{N3}.

Metodologia	Amostra	T (h)	Absorbância medida	Absorbância corrigida ¹	Concentração (mol/g) ²	Eficiência (%) ³
RF_1	F_9/3	-	-	-	-	-
RF_2	F_9/3	16	0,0371	0,0326	1,93x10 ⁻⁶	4,5
RF_2	F_10/10	16	0,0560	0,0515	3,67x10 ⁻⁶	4,5
RF_3	F_10/10	48	0,0299	0,0254	3,57x10 ⁻⁶	4,5
		120	0,0248	0,0203	3,51x10 ⁻⁷	4
RF_4	F_10/10	48	0,0248	0,0203	2,86x10 ⁻⁶	3,5
		120	0,0257	0,0212	1,72x10 ⁻⁶	2
RF_5	F_10/10	48	0,0222	0,0177	2,0x10 ⁻⁶	2,5
		120	0,0241	0,0196	2,05x10 ⁻⁶	2,5

¹Após desconto do branco (absorbância = 0,0043)

²Concentração de ROD-N₃ reagida por grama de nanofibra e, conseqüentemente, concentração de grupo alcino disponível para reação CuAAC na superfície.

³Eficiência de funcionalização da superfície, calculada considerando o grau de modificação e o percentual de polímero modificado.

Observando a tabela XIV, verifica-se que a metodologia testada que se apresenta mais vantajosa para dar seqüência para os testes com as demais fibras é a RF_2. Mesmo que não tenha apresentado um resultado maior com relação à eficiência de funcionalização, é a metodologia que apresentou o melhor resultado, em menor tempo reacional, além de ser em meio aquoso, o que reduz a utilização de solvente nocivo (metanol).

A tabela XV traz os resultados obtidos para a reação de funcionalização superficial da nanofibra com o corante, pela metodologia RF_2.

Tabela XV: Resultados obtidos para a funcionalização via CuAAC das nanofibras modificadas pela metodologia RF_2

Nanofibra	Absorbância medida (u.a.)	Absorbância Real (u.a.) ¹	Concentração (mol/g) ²	Eficiência (%) ³
F_9/3	0,0363	0,0318	1,93x10 ⁻⁶	4,5
F_10/9	0,0628	0,0583	3,59x10 ⁻⁶	4,2
F_10/10	0,0560	0,0515	3,67x10 ⁻⁶	4,5

¹Após desconto do branco (branco = 0,0043)

²Concentração de ROD-N₃ reagida por grama de nanofibra e, conseqüentemente, concentração de grupo alcino disponível para reação CuAAC na superfície.

³ Eficiência de funcionalização da superfície, calculada considerando o grau de modificação e o percentual de polímero modificado.

As reações realizadas com as nanofibras apresentaram como resultado valores de concentração de alcino superficial condizentes com as proporções de polímero modificado adicionados à solução previamente eletrofiada. Nas nanofibras cujas composições levavam menor percentual de polímero modificado (F_9/3), a concentração de alcino foi menor do que nas nanofibras em que se adicionou maior proporção de polímero modificado (F_9/10 e F_10/10). Porém, em todos os casos essa concentração representou uma eficiência de modificação superficial de, em média, 4,5%, independente do material analisado. Os resultados mostrados na tabela XV possibilitaram o surgimento de 2 hipóteses.

A primeira se relaciona com hidrofobicidade do PLA e do grupo alcino terminal. Na matriz polimérica da nanofibra hidrofóbica, há a possibilidade do alcino terminal preferir permanecer no interior da fibra ao invés de exposto, como é a proposta do presente trabalho, mesmo que ocorra a sua indução devido ao campo elétrico imposto durante o processo de eletrofiação.

A segunda hipótese é referente ao rendimento da reação *Click* e as condições empregadas. Como a reação ocorre em meio heterogêneo em solvente aquoso e, como dito anteriormente, a nanofibra de PLA é hidrofóbica, a interação com o meio reacional pode ser bastante limitada. Esse limite pode levar às dificuldades de reação entre grupos funcionais. Os

resultados semelhantes entre todas as nanofibras, independente do percentual de PLA_alc adicionado, torna inconclusiva qual das hipóteses pode ser mais correta.

6. CONCLUSÕES

Nesse trabalho foi utilizada a técnica de polimerização por abertura de anel do lactídeo para a obtenção de um polímero PLA de baixa massa molar funcionalizado terminalmente com grupo funcional alcino, através do sistema catalítico bis-(2-etil-hexanoato) de estanho (II) e álcool propargílico. Esse método para obtenção do polímero desejado (PLA_alc) se mostrou eficaz, com tempo reacional de 4 horas, razão iniciador/catalisador igual 1, temperatura de 140 °C e razão monômero/iniciador de 70, obtendo-se polímero com cerca de 75 % de funcionalização e massa molar de 5000 g/mol, obtida por GPC.

A partir do polímero sintetizado, foram sintetizadas nanofibras poliméricas. Foram obtidos 3 materiais a partir das blendas entre o polímero sintetizado e de polímero comercial de alta massa molar (PLA_am/PLA_alc), sendo elas: F_9/3, com 25 % de polímero PLA_alc; F_10/9, com 52 % de PLA_alc; e F_10/10, com 50 % de PLA_alc.

As nanofibras apresentaram diâmetros médios que variaram pouco, independentemente da composição da solução empregada. Com relação aos parâmetros experimentais, observou-se que o fluxo de alimentação da seringa apresentou a maior influência na morfologia das fibras obtidas. A adição de uma maior proporção de polímero de baixa massa molar à blenda PLA_am/PLA_alc não alterou significativamente a solução com relação ao valor de viscosidade da solução.

O efeito do processamento via eletrofição sobre o comportamento térmico das nanofibras foi estudado, observando-se que a aplicação de alta voltagem durante a técnica não induziu cristalinidade na cadeia polimérica, porém ocorreu um ordenamento da mesma.

Para a reação do corante ROD_N₃ com as nanofibras, estudou-se as condições reacionais que possibilitassem os melhores resultados com relação à funcionalização da superfície por cicloadição 1,3-dipolar alterando solvente (água e água/metanol, nas proporções 1:2 e 1:3) e tempo reacional (0, 16, 48 e 120 horas). As condições que mostraram os melhores resultados foram aquelas que utilizavam como solvente água e tempo reacional de 16 h. A eficiência da reação foi verificada através de UV-Vis, sendo constatada uma eficiência de funcionalização de superfície 4,5 % com relação ao percentual de grupos alcino adicionados a solução polimérica inicial. O valor obtido sugere que a maior parte dos grupos alcino podem estar no interior das nanofibras, ou ainda, que as condições reacionais não são as ideais para o processo.

7. PERSPECTIVAS

Um estudo aprofundado com relação aos parâmetros de eletrofição é útil a fim de otimizar a exposição dos grupos funcionais na superfície da nanofibra polimérica. Além disso, torna-se necessário investigar os parâmetros da reação *Click*, sendo que essa é uma etapa importante que auxiliará nas etapas posteriores de funcionalização com biomoléculas de interesse, como por exemplo, peptídeos e carboidratos, para aplicação do material na área biomédica.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Gupta, B.; Revagade, N.; Hilborn, J.; *Progress in Polymer Science* **2007**, *32*, 455
2. Carothers, W. H.; Dorrough, G. L.; Van Natt, F. J.; *Journal of the American Chemical Society* **1932**, *54*, 761
3. Lasprilla, A. J. R.; Martinez, G. A. R.; Lunelli, B. H.; Jardini, A. L.; Maciel, R. F.; *Biotechnology Advances* **2012**, *30*, 321
4. Jamshidian, M.; Tehrany, E. A.; Imran, M.; Jacquot, M.; Desobry, S.; *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2010**, *9*, 552
5. Lopes, M. S.; Jardini, A. L.; Maciel, R.; *Procedia Engineering* **2012**, *42*, 1402
6. Xiao, L.; Wang, B.; Yang, G.; Gauthier, M. In *Biomedical Science, Engineering and Technology*; Ghista, D. N., Ed.; InTech, 2012.
7. Rasal, R. M.; Jaonrkar, A. V.; Hirt, D. E.; *Progress in Polymer Science* **2010**, *35*, 338
8. Gupta, A. P.; Kumar, V.; *European Polymer Journal* **2007**, *43*, 4053
9. Garlotta, D.; *Journal of Polymers and the Environment* **2001**, *9*, 63
10. Odian, G. *Principle of Polymerization*; Fourth Edition ed.; John Wiley & Sons: New York, 2004.
11. Biela, T.; Kowalski, A.; Libiszowski, J.; Duda, A.; Penczek, S.; *Macromol. Symp.* **2006**, *240*, 47–55 **2006**, *240*, 47
12. Lecomte, P.; Jérôme, C.; *Adv. Polym. Sci.* **2012**, *245*, 173
13. Lawan, N.; Muangpil, S.; Kungwan, N.; Meepowpan, P.; Lee, V. S.; Punyodom, W.; *Computational and Theoretical Chemistry* **2013**, *1020*, 121
14. Dorff, G.; Hahn, M.; Laschewsky, A.; Lieske, A.; *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *127*, 120
15. Wang, S.; Cui, W.; Be, J.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *381*, 547
16. Yang, J.; Wan, Y.; Tu, C.; Cai, Q.; Bei, J.; Wang, S.; *Polym. Int.* **2003**, *52*, 1892
17. Alves, C. M.; Yang, Y.; Marton, D.; Carnes, D. L.; Ong, J. L.; Sylvia, V. L.; Dean, D. D.; Reis, R. L.; Agrawal, C. M.; *Journal of Biomedical Material Research Part B: Applied Biomaterials* **2007**, *87B*, 59
18. Riva, R.; Schmeits, S.; Stoffelbach, F.; Jérôme, C.; Jérôme, R.; Lecomte, P.; *Chem. Commun.* **2005**, 5334
19. Valizadeh, A.; Farkhani, S. M.; *Nanobiotechnol.* **2014**, *8*, 83
20. Ke, P.; Jiao, X.-N.; Ge, X.-H.; Xiaoe, W.-M.; Yu, B.; *RSC Adv.* **2014**, *4*, 39704
21. Ingavle, G. C.; Leach, J. K.; *Tissue Engineering: Part B* **2014**, *20*, 277

22. Costa, R. G. F.; Oliveira, J. E. d.; Paula, G. F. d.; Picciani, P. H. d. S.; Medeiros, E. S. d.; Ribeiro, C.; Mattoso, L. H. C.; *Polímeros* **2012**, *22*, 170
23. Casasola, R.; Thomas, N. L.; Trybala, A.; Georgiadou, S.; *Polymer* **2014**, *55*, 4728
24. Ramakrishna, S.; Fujihara, K.; Teo, W.-E.; Lim, T.-C.; Ma, Z. *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*; World Scientific: Singapore, 2005.
25. Yang, F.; Murugan, R.; Wang, S.; Ramakrishna, S.; *Biomaterials* **2005**, *26*, 2603
26. Zong, X.; Kim, K.; Fang, D.; Ran, S.; Hsiao, B. S.; Chu, B.; *Polymer* **2002**, *43*, 4403
27. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004
28. Lahann, J. *Click Chemistry: A Universal Ligation Strategy for Biotechnology and Materials Science*; John Wiley & Sons, Ltd: USA, 2009.
29. Lutz, J.-F.; Zarafshani, Z.; *Advanced Drug Delivery Reviews* **2008**, *60*, 958
30. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M.; *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057
31. Xi, W.; Scott, T. F.; Kloxin, C. J.; Bowman, C. N.; *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 2572
32. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596
33. Hein, C. D.; Liu, X.-M.; Wang, D.; *Pharmaceutical Research* **2008**, *25*, 2216
34. Zheng, J.; Xie, S.; Lin, F.; Hua, G.; Yu, T.; Reneker, D. H.; Becker, M. L.; *Polym. Chem* **2013**, *4*, 2215
35. Callahan, L. A. S.; Xie, S.; Xie, S.; Barker, I. A.; Zheng, J.; Reneker, D. H.; Dove, A. P.; Becker, M. L.; *Biomaterials* **2013**, *34*, 9089
36. Binder, W. H.; Sachsenhofer, R.; *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 15
37. Hvilsted, S.; *Polym. Int.* **2012**, *61*, 485
38. Huang, J.; Wang, D.; Lu, Y.; Li, M.; Xu, W.; *RSC Adv* **2013**, *3*, 20922
39. Chang, Z.; Xu, Y.; Zhao, X.; Zhang, Q.; Chen, D.; *Applied Materials & Interfaces* **2009**, *1*, 2804
40. Fu, G. D.; Xu, L. Q.; Yao, F.; Zhang, K.; Wang, X. F.; Zhu, M. F.; Nie, S. Z.; *Applied Materials & Interfaces* **2009** *1*, 239
41. Fu, G.-D.; Xu, L.-Q.; Yao, F.; Li, G.-L.; Kang, E.-T.; *ACS Applied Materials & Interfaces* **2009**, *1*, 2424.
42. Lancuški, A.; Fort, S. b.; Bossard, F. d. r.; *Appl. Mater. Interfaces* **2012**, *4*, 6499 – 6504.
43. Qian, Y.-C.; Ren, N.; Huang, X.-J.; Chen, C.; Yu, A.-G.; Xu, Z.-K.; *Macromolecular Chemistry and Physics* **2013**, *214*, 1852 – 1858.
44. Laville, M.; Babin, J.; Londono, I.; Legros, M.; Nouvela, C.; Duranda, A.; Vanderesse, R.; Leonard, M.; Six, J.-L.; *Carbo. Polym.* **2013**, *93*, 537

45. Staff, R. H.; Willersinn, J.; Musyaovych, A.; Katharina, L.; Crespy, D.; *Polym. Chem.* **2014**, 4097
46. Wei, X.; Chen, W.; Chen, X.; Russell, T. P.; *Macromolecules* **2010**, 43, 6234
47. Bach, M. F.; Dissertação de Mestrado, UFRGS, 2013.
48. Schwach, G.; Coudane, J.; Engel, R.; Vert, M.; *Polymer Bulletin* **1994**, 32, 617
49. Braun, D.; Cherdrón, H.; Rehahn, M.; Ritter, H.; Volt, B. *Polymer Synthesis: Theory and Practice* 4 Ed. ed.; Springer: Nova Iorque, 2005.
50. Drumright, R. E.; Gruber, P. R.; Henton, D. E.; *Adv. Mat.* **2000**, 12, 1841
51. Kricheldorf, H. R.; Serra, A.; *Polymer Bulletin* **1985**, 14, 497
52. Fox, T. G.; Flory, P. J.; *Journal of Applied Physics* **1950**, 21.
53. Li, D.; Frey, M. W.; Baeumner, A. J.; *Journal of Membrane Science* **2006**, 279, 354
54. Zhao, S.; Wu, X.; Wang, L.; Huang, Y.; *Cellulose* **2003**, 10, 405
55. Inai, R.; Kotaki, M.; Ramakrishna, S.; *Nanotechnology* **2005**, 16, 208
56. Nishida, H.; Mori, T.; Hoshihara, S.; Fan, Y.; Shiraic, Y.; Endo, T.; *Polymer Degradation and Stability* **2003**, 81, 515
57. Kopinke, F.-D.; Remmler, M.; Mackenzie, K.; Milder, M.; Wachsen, O.; *Polymer Degradation and Stability* **1996**, 43, 329
58. Gamba, D.; Tese de Doutorado, UFRGS, 2013.
59. Wang, C.; Chien, H.-S.; Yan, K.-W.; Hung, C.-L.; Hung, K.-L.; Tsai, S.-J.; Jhang, H.-J.; *Polymer* **2009**, 50, 6100
60. Utracki, L. A. In *Polymer Blend Handbook*; Utracki, L. A., Ed.; Kluwer Academic Publishers: The Netherlands, 2002; Vol. Volume 1.
61. Ramos, S. S.; Vilhena, A. F.; Santos, L.; Almeida, P.; *Magn. Reson. Chem.* **2000**, 38, 475
62. Chen, X.; Wu, Q.; Henschke, L.; Weber, G.; Weil, T.; *Dyes and Pigments* **2012**, 94, 296
63. Sakakura, A.; Kawajiri, K.; Ohkubo, T.; Kosugi, Y.; Ishihara, K.; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 14775
64. Nakajima, N.; Ikada, Y.; *Bioconjugate Chem.* **1995**, 6, 123
65. Sun, X.-Y.; Shankar, R.; Börner, H. G.; Ghosh, T. K.; Spontak, R. J.; *Adv. Mater.* **2007**, 19, 87
66. Fu, G. D.; Lei, J. Y.; Yao, C.; Li, X. S.; Yao, F.; *Macromolecules* **2008**, 41, 6854

ANEXO 1: ESPECTROS DE RESSONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO DOS REAGENTES UTILIZADOS

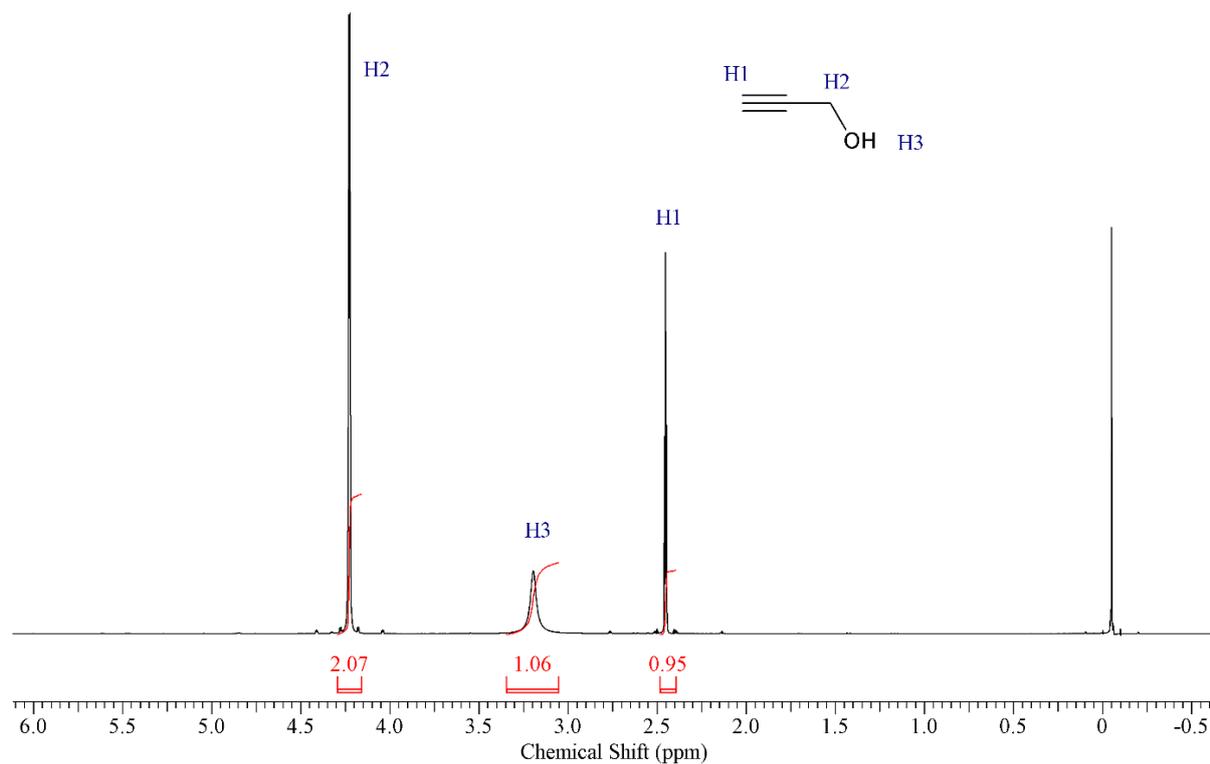


Figura 28: Espectro de RMN ^1H para o álcool propargílico utilizado como iniciador nas reações de polimerização por abertura de anel.

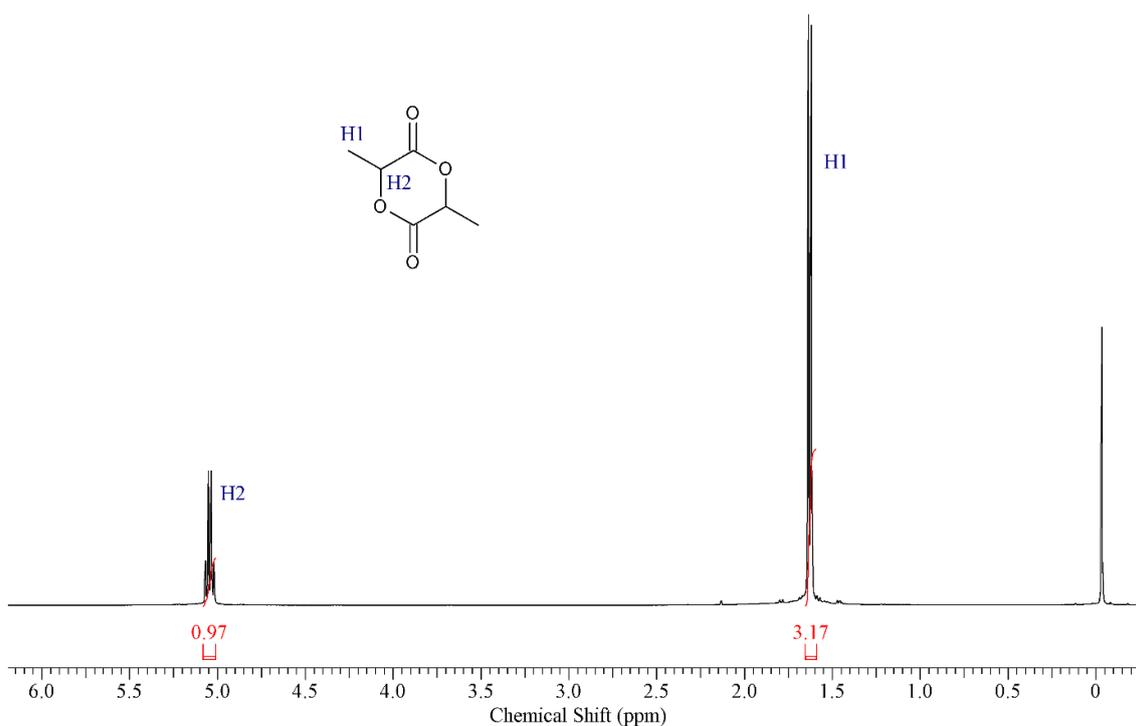
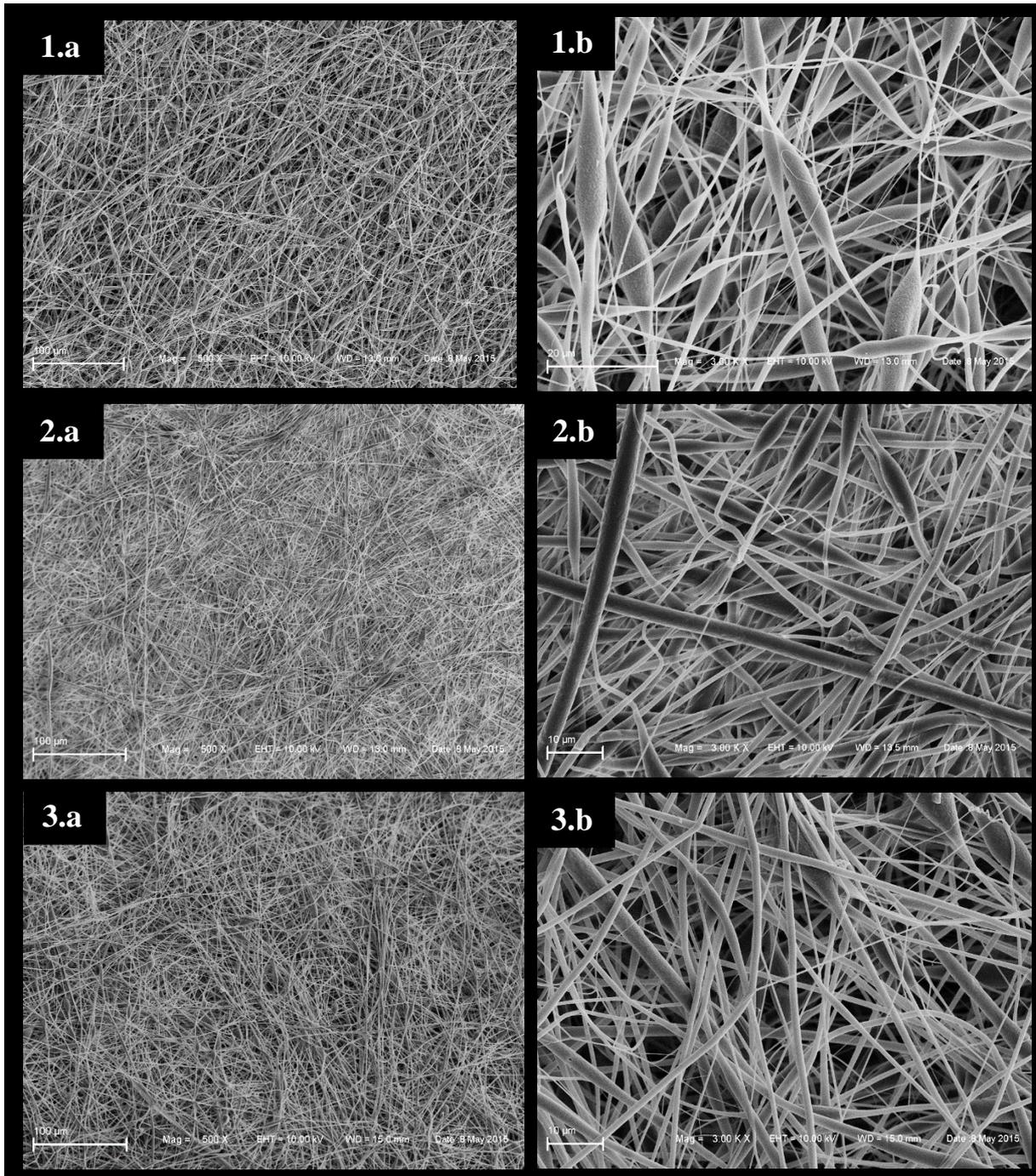


Figura 29: Espectro de RMN ^1H para o lactídeo após recristalização em tolueno.

ANEXO 2: MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS NANOFIBRAS OBTIDAS



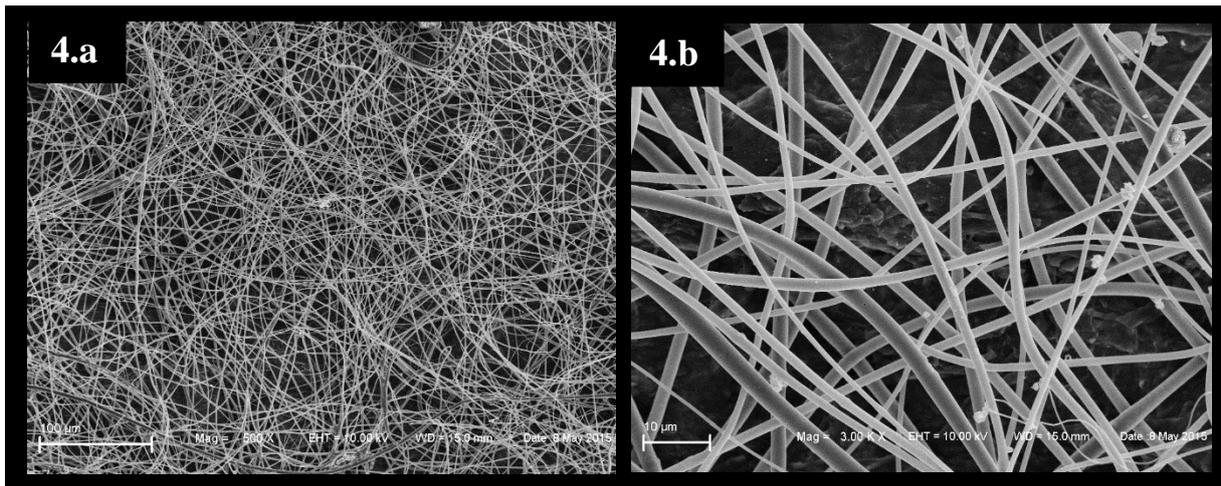


Figura 30: Fotomicrografias das nanofibras obtidas das composições: 1) F_10/0; 2) F_9/3; 3) F_9/10 e 4). F_10/10. Os índices a) e b) se referem as magnificações obtidas nas imagens, relativas a 500 e 3000 vezes, respectivamente.

ANEXO 3: ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE CARBONO RELATIVAS A MODIFICAÇÃO DA RODAMINA B

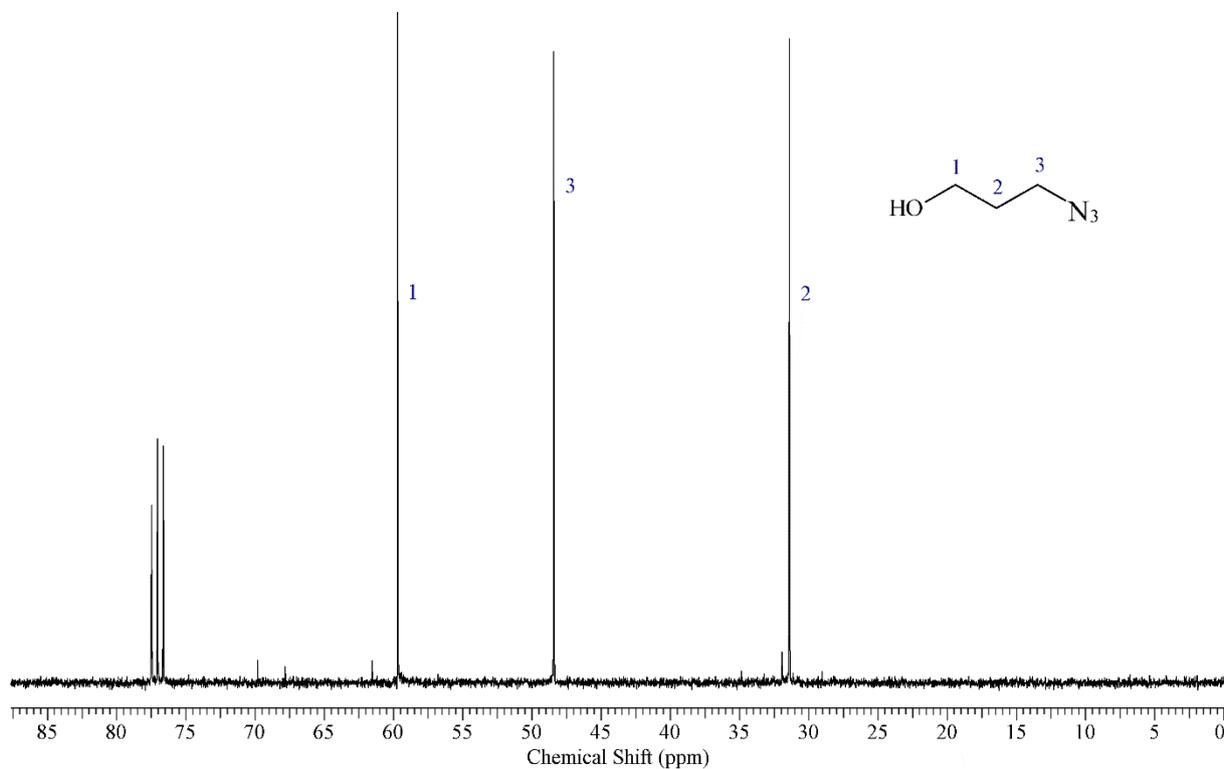


Figura 31: Espectro de RMN ^{13}C para o composto 3-azido-1-propanol.

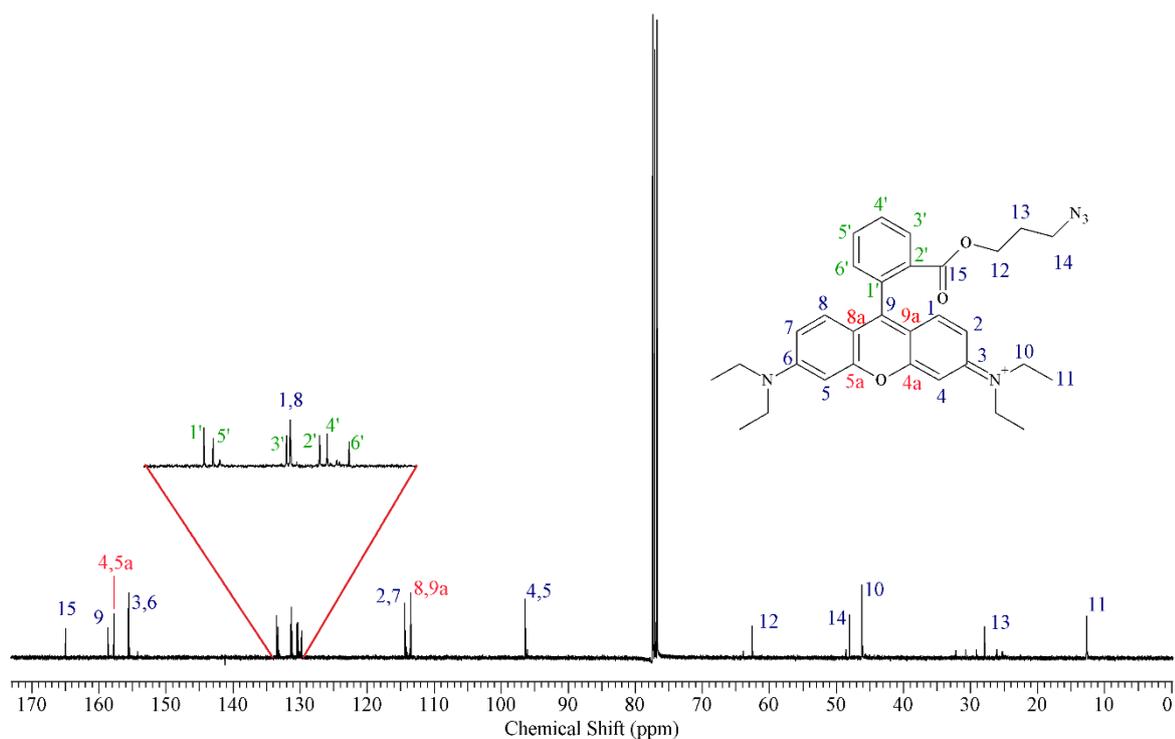


Figura 32: Espectro de RMN ^{13}C para ROD- N_3 .