

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC

Trabalho de Conclusão de Curso | Bacharelado em Química

Leonardo Henrique Marcelino da Silva

**Estudo de encapsulamento e liberação controlada
de moléculas farmacologicamente ativas de baixa
solubilidade aquosa**

Santo André, SP

NOVEMBRO – 2020

Leonardo Henrique Marcelino da Silva

**Estudo de encapsulamento e liberação controlada
de moléculas farmacologicamente ativas de baixa
solubilidade aquosa**

Monografia de Trabalho de
Conclusão de Curso, apresentado ao
Bacharelado em Química da UFABC
para obtenção do título de Bacharel
em Química
Orientador: Prof. Artur Franz Keppler

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe Rosineide, meu pai Eurides e meu irmão Nicolas por me apoiarem e me incentivarem em cada passo desta longa caminhada, estando sempre por perto em todos os momentos.

À minha noiva Juliana pelo apoio, carinho e incentivo durante toda a jornada.

Aos meus amigos de graduação, pela força e amizade durante esses anos.

Ao meu orientador Artur e ao professor Márcio pela oportunidade de realização desse trabalho, além do tempo e disposição em me conduzir durante o processo.

Sumário

Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	7
3. Metodologia experimental.....	7
3.1. Reagentes e equipamentos.....	7
3.2. Análise da solubilidade aquosa.....	8
3.3. Preparo da solução estoque de nitrona pura (SNP).....	8
3.4. Preparo da solução de polímero.....	8
3.5. Preparo da nitrona encapsulada.....	8
3.6. Preparo da solução estoque de nitrona encapsulada (SNE).....	9
3.7. Leitura das amostras no UV.....	9
3.8. Leituras das amostras no FTIR.....	9
4. Resultados e discussões.....	10
5. Conclusão.....	17
6. Referências bibliográficas.....	17

Resumo

Os sistemas de liberação controlada de fármacos, utilizando matrizes poliméricas, são de grande interesse médico, farmacêutico e industrial. A compreensão do comportamento físico-químico de partículas poliméricas é objeto de inúmeras pesquisas. Um dos maiores desafios, que ainda persiste, é a elucidação da forma de associação dos fármacos a partículas poliméricas, visando à otimização da taxa de associação e a compreensão dos fatores que influenciam o perfil de liberação dos fármacos.

Esse trabalho teve como objetivo realizar testes de formulação para encapsular moléculas com potencial farmacológico, visando o aumento de sua solubilidade em meio aquoso, evitando assim o uso de co-solventes. Duas moléculas contendo o grupo funcional nitrona com solubilidades distintas foram submetidas a testes de solubilidade em meio aquoso e em metanol, utilizando a espectroscopia nas regiões do IV e UV como ferramentas diretas de quantificação. O encapsulamento foi feito com uma mistura de polímeros biocompatíveis (poloxamer 188 e 407), ambos os testes de solubilidade foram feitos em meio aquoso e após o encapsulamento, as moléculas apresentaram um aumento de dez vezes na sua solubilidade.

Palavras-chave: liberação controlada de fármacos, nitronas, polímeros.

Abstract

Encapsulation and controlled release study of pharmacologically active molecules with low aqueous solubility.

Controlled drug release systems using polymeric matrices are of great medical, pharmaceutical and industrial interest. Understanding the physicochemical behavior of polymeric particles is the subject of numerous research. One of the biggest challenges that still persists is the elucidation of the form of association of drugs with polymeric particles, aiming at optimizing the association rate and understanding the factors that influence the drug release profile.

This work aimed to carry out formulation tests to encapsulate molecules with pharmacological potential, aiming at increasing their solubility in aqueous medium, thus avoiding the use of co-solvents. Two molecules containing the nitronone functional group with different solubilities were subjected to solubility tests in aqueous media and in methanol, using spectroscopy in the IR and UV regions as direct quantification tools. The encapsulation was done with a mixture of biocompatible polymers (poloxamer 188 and 407), both solubility tests were carried out in an aqueous medium and after encapsulation, the molecules showed a tenfold increase in their solubility.

Keywords: controlled release of drugs, nitronones, polymers.

1. Introdução

A tecnologia de liberação controlada de fármacos representa importante fronteira da ciência, a qual envolve diferentes aspectos multidisciplinares, podendo contribuir para o avanço da saúde humana.^[1]

Os sistemas de liberação controlada oferecem várias vantagens quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos.^[2] Dentre essas vantagens podemos citar o direcionamento e facilitação da absorção do fármaco em um ponto específico do organismo ou grupo de células; proteção do princípio ativo de condições severas do organismo e de enzimas; possibilidade de utilizar substâncias hidrofílicas e lipofílicas; diminuição da quantidade de dosagens do fármaco ingerido pelo paciente, reduzindo o tempo do tratamento clínico.^[3]

O encapsulamento é uma técnica utilizada para recobrir materiais sólidos, líquidos ou gasosos, que são chamados de ativos ou núcleos, utilizando geralmente materiais poliméricos, formando pequenas partículas que podem liberar seu conteúdo de forma controlada e em condições específicas.^[4]

Atualmente, diversas indústrias, como as de alimentos, farmacêutica, cosméticos, etc, utilizam técnicas de encapsulamento em seus produtos com diversas finalidades. O encapsulamento pode garantir proteção aos compostos que são sensíveis a condições adversas, tais como pH, temperatura, luz, etc.^[5]

O encapsulamento pode garantir a liberação controlada de ativos em condições específicas, como por exemplo, um fármaco ser ingerido, mas só ser liberado no intestino, resistindo as condições adversas do estômago.^[6]

As pesquisas em torno do método de encapsulamento utilizado no projeto foram embasadas pelo trabalho de Würster, com o processo patenteado de encapsulamento de finas partículas sólidas em leite fluidizado^[8]. Em seguida, outros

processos foram sendo destacados, tais como coacervação (inicialmente para encapsulamentos de líquidos e, mais tarde, como técnica preparativa de nanopartículas), implantes (introduzidos nos anos 70) e aplicações transdérmicas nos anos 80.

Os materiais poliméricos são os mais utilizados devido à sua versatilidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, possibilidade de modificação de suas propriedades físico-químicas, adicionando ou removendo grupos específicos e, também, devido à possibilidade de obtenção de diferentes estratégias de liberação de fármacos. São classificados como ^[9]:

- **Polímeros naturais:** o colágeno, a celulose e a quitosana são biodegradáveis e utilizados como matrizes em liberação de fármacos. Um exemplo é a aplicação de quitosana combinada com poli (ácido acrílico), formando um copolímero, na confecção de nanoesferas para liberação controlada em função do tempo, utilizando-se de eosina, um corante solúvel em água, como marcador.
- **Polímeros naturais modificados:** um dos contratempos dos polímeros naturais é que eles levam muito tempo para se degradarem. Isto pode ser resolvido adicionando-se grupos polares às cadeias, que por serem mais lábeis podem diminuir o tempo de degradação. Exemplos destas modificações podem ser a reticulação da gelatina utilizando-se formaldeído, a reticulação da quitosana utilizando-se glutaraldeído, levar celulose a acetato de celulose. Modificações enzimáticas também são utilizadas, como a modificação de quitosana por tirosinase.
- **Polímeros sintéticos:** são utilizados poli (etileno), poli (álcool vinílico), poli (ácido acrílico), poli (acrilamidas), poli (etilenoglicol), poliésteres.

Os sistemas poliméricos de liberação controlada possibilitam que moléculas que apresentam baixa solubilidade, possam tornar-se moléculas farmacologicamente ativas e apresentam uma liberação lenta e gradual do ingrediente ativo, como possibilitar o direcionamento a alvos específicos do organismo, bem como possibilitar.

Os mecanismos de liberação dos ativos são diversos e variam de acordo com o material utilizado para realizar o encapsulamento, sendo os principais: variação de temperatura, pH, ruptura mecânica, biodegradação, solubilidade no meio, permeabilidade seletiva e gradiente de concentração no meio. [4, 7]

Os mecanismos físico-químicos de liberação do fármaco têm merecido destaque. Enquanto a velocidade de dissolução é uma característica do fármaco, a velocidade de liberação é o resultado do sistema em que o fármaco está inserido. Existem três mecanismos gerais pelos quais os fármacos são liberados das matrizes poliméricas: (1) difusão do fármaco a partir do sistema de liberação; (2) reação química ou enzimática levando a degradação do polímero, ou clivagem do sistema fármaco-polímero; (3) ativação do sistema de liberação tanto através de osmose ou intumescimento. [10, 11]

Há diferentes métodos de preparação de sistemas nanoparticulados. Os mais utilizados são [10]:

- **Métodos mecânicos:** considerando-se a produção em larga escala, estes métodos podem ser úteis comercialmente. Um exemplo é o revestimento em leito fluidizados, em que partículas são mantidas em suspensão através de um fluxo de ar contínuo e revestidas por atomização do material revestidos no leito de partículas suspensas. Existe também a centrifugação

multiorifício, que utiliza centrifugação para lançar os núcleos através de uma membrana do material revestidor e o revestimento em turbinas, o qual consiste em revestir núcleos sólidos através da pulverização do material de revestimento, com fácil remoção do solvente pela corrente de ar. Entretanto, o método mecânico mais utilizado é o “Spray Drying” (secagem em spray), em que o fármaco, em solução ou dispersão, é nebulizado, juntamente com o material revestidor solubilizado ou fundido. Isto é feito em uma câmara de evaporação, causando a rápida solidificação das gotículas originando as partículas.

- **Métodos Físico-químicos:** estão baseados na dissolução de um fármaco, juntamente com um polímero, em determinado solvente, seguida pela adição, sob agitação constante, de um não-solvente à mistura. O não solvente causa a precipitação do polímero ou pode ocorrer também à separação de fases (muitas vezes chamados de processos de coacervação). Os processos de coacervação podem ser divididos em simples (por mudança no pH, força iônica, temperatura) ou complexos (complexação entre dois polieletrólitos de carga oposta) [12].
- **Método de coacervação:** a coacervação ou separação de fases consiste na obtenção, a partir de uma solução contendo uma macromolécula dispersa, de duas fases líquidas imiscíveis, uma fase de coacervado, em que a macromolécula está presente em elevada concentração e uma fase de equilíbrio, em que a mesma está em baixa concentração. Se apenas está presente uma única macromolécula este processo é designado por coacervação simples e quando estão presentes duas ou mais moléculas de carga oposta é referido como coacervação complexa. A coacervação

simples é induzida por uma alteração de condições que causam a dessolvatação da macromolécula, como a adição de um não-solvente, a adição de micro íons ou alterações da temperatura, que promovem as interações macromolécula em detrimento das interações macromolécula-solvente. A coacervação complexa é induzida utilizando-se forças eletrostáticas entre as macromoléculas, como por exemplo, nas interações gelatina-acácia, Carbopol®-gelatina, pectina-gelatina, gelatina-gelatina e carboximetilcelulose sódica-gelatina. A deposição do coacervado sobre pequenas partículas insolúveis no líquido de equilíbrio leva à formação de cápsulas embriônicas, que, após gelificação, originam as microcápsulas.

[13]

Entre os sistemas poliméricos mais utilizados para encapsulamento, estão os Poloxamer®, que são copolímeros não iônicos e apresentam uma estrutura em tribloco do tipo ABA (**Figura 1**) com uma cadeia central hidrofóbica de poli (propileno glicol) flanqueada por duas cadeias hidrofílicas de poli (etileno glicol). Baseado nessa diferença de solubilidade em água, o material polimérico é capaz de se organizar em micelas esféricas ^[14].

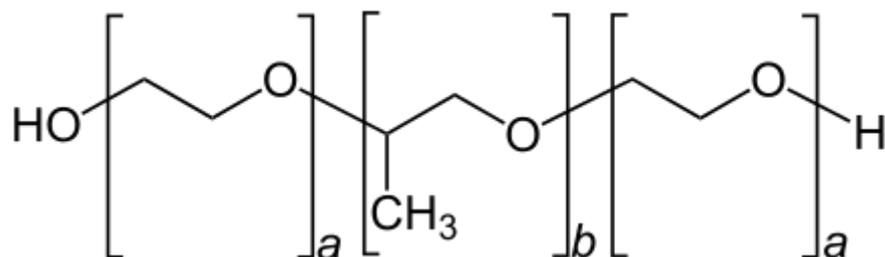


Figura 1- fórmula geral dos polímeros Poloxamer®

Para o trabalho, foi utilizado uma mistura de Poloxamer® 188 (que apresenta uma fórmula química de a= 101 e b= 56) e 407 (que apresenta uma fórmula química de a= 2-130 e b= 15-67).

A classe de compostos contendo o grupo funcional nitrona, que tem como esqueleto base representado na **Figura 2**, vem sendo objeto de estudo do grupo do Prof. Artur Keppler (CCNH – UFABC) desde 2012 ^[15]. Suas propriedades antioxidantes são bem descritas na literatura,^[16] relacionando diretamente esta linha de pesquisa com a busca de um tratamento de doenças como Alzheimer, Mal de Parkinson, ALS entre outras.

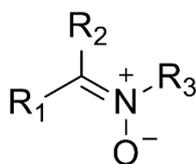


Figura 2- Esqueleto base das nitronas.

Um dos grandes problemas destes compostos é sua baixa solubilidade aquosa, dificultando o planejamento e a execução dos testes *in vitro* e *in vivo*. Por conta deste problema, existe um vasto campo de estudo sintético visando funcionalizar o esqueleto de nitronas, a fim de modular sua polaridade e dessa maneira aumentar sua solubilidade aquosa. ^[17-19]

Esta estratégia é válida, no entanto o custo operacional é extremamente alto, uma vez que a síntese dessas espécies envolve procedimentos multi-etapas e, sendo muito polares, os processos de purificação tornam-se mais tediosos e complicados do que seus análogos não funcionalizados. A proposta deste projeto é buscar uma alternativa ao processo de solubilização, recobrando as moléculas com um polimérico e avaliar: o aumento de solubilidade em meio aquoso, a cinética de

liberação e a liberação controlada do ativo, propriedades estas de suma importância para um fármaco em potencial.

2. Objetivos

Tendo em vista o potencial farmacológico de compostos com o grupo funcional nitrona e sua baixa solubilidade aquosa que dificulta seu uso em testes *in vivo*, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um método de encapsulamento polimérico para as moléculas de interesse, visando o aumento da solubilidade aquosa e a análise de seu perfil de liberação controlada *in vitro*.

3. Metodologia experimental

3.1. Reagentes e equipamentos

Os solventes metanol (MeOH, Synth), dimetilsulfóxido (DMSO, Synth) e os polímeros Poloxamer 188 e Poloxamer 407 foram utilizados como adquiridos comercialmente. Os espectros de absorção na região do ultravioleta (UV - Vis) foram obtidos em um espectrofotômetro ThermoScientific Genesys 10S UV-Vis. Os espectros de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (IV) foram obtidos em um espectrofotômetro FT-IR Spectrum Two, na modalidade ATR, da PerkinElmer.

3.2. Análise da solubilidade aquosa

Em um tubo tipo Falcon contendo aproximadamente 1 mg de nitrona, foi adicionado um volume mínimo de água destilada para que toda a massa de nitrona fosse dissolvida. O mesmo procedimento foi realizado para a determinação da solubilidade aquosa da nitrona encapsulada.

3.3. Preparo da solução estoque de nitrona pura (SNP)

Em um eppendorf de 3 mL, adicionou-se nitrona (10 mg), seguido de metanol (1,5 mL, 37 mmol). O sistema foi agitado em agitador tipo Vórtex até que todo o sólido tenha dissolvido, sendo essa a solução estoque. Pipetou-se 100 µL dessa solução em outro eppendorf e adicionou-se metanol (1,5 mL, 37 mmol), em seguida o sistema foi agitado em agitador tipo Vórtex por 60 segundos, sendo essa a solução estoque diluída.

3.4. Preparo da solução de polímero

Em um erlenmeyer de 125 mL, foi adicionado o polímero 188 (6,4 g), polímero 407 (1,6 g) e água deionizada (42 mL, 2,33 mol). O sistema foi mantido em banho de gelo e sob agitação magnética por 1 hora, até que todo o polímero tenha sido dissolvido.

3.5. Preparo da nitrona encapsulada

Em um tubo tipo Falcon de 50 mL, foi adicionado nitrona (10 mg), metanol (2,0 mL, 46 mmol). O tubo foi agitado em agitador tipo Vórtex até que todo sólido tenha dissolvido, em seguida, adicionou-se a solução de polímero (1,0 mL, 16% (m/m)) e agitou-se por 20 segundos. O sistema permaneceu sob refrigeração (2°C)

por 24 horas. Para obter-se um sólido com a amostra preparada de nitrona, utilizamos o processo de liofilização para remover o solvente. Em seguida a amostra foi congelada utilizando nitrogênio líquido e levada ao liofilizador até que todo solvente tenha sido evaporado. O processo de liofilização levou cerca de 24 horas. Após a secagem do solvente, o sólido foi homogeneizado e transferido para um eppendorf.

3.6. Preparo da solução estoque de nitrona encapsulada (SNE)

Em um eppendorf de 3 mL, adicionou-se a nitrona encapsulada (20 mg), seguido de água deionizada (1,0 mL, 56 mmol). O sistema foi agitado em agitador tipo Vórtex até que todo sólido tenha dissolvido, sendo essa a solução estoque.

3.7. Leitura das amostras no UV

As leituras das solução-estoque SNP e SNE foram realizadas de maneira individual, seguindo o procedimento descrito abaixo.

Com o auxílio de uma micropipeta automática, pipetou-se 100 uL de solução estoque em uma cubeta de quartzo e adicionou-se 2,9 mL de solvente (metanol para SNP e água deionizada para SNE). O espectro foi obtido após varredura entre os comprimentos de onda de 200 a 600 nm.

3.8. Leituras das amostras no FTIR

As leituras das amostras de nitrona pura e encapsuladas foram realizadas de maneira individual, seguindo o procedimento descrito abaixo.

Com o auxílio de uma espátula, adicionou-se uma pequena quantidade de amostra suficiente para cobrir o cristal do aparelho e obteve-se os espectros de infravermelho entre os intervalos de 4000 a 700 cm^{-1} .

4. Resultados e discussões

Neste trabalho foram utilizadas duas nitronas para a realização dos testes de solubilidade e encapsulamento: α -(Z)-fenil-N-3,4-dimetilfenil nitrona **1** e α -(Z)-2-piridil-N-fenil nitrona **2**.

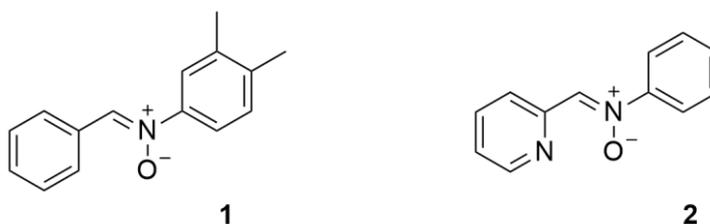


Figura 3 - Estruturas das nitronas utilizadas

No teste de solubilidade aquosa das moléculas puras foram observados comportamentos diferentes. Para a nitrona **1**, com a adição de 50 mL de água deionizada foi observada a total solubilização e desaparecimento da turbidez da solução, obtendo uma concentração final de 0,1 mmol L^{-1} . Entretanto para a nitrona **2**, foram necessários apenas 5 mL de água, obtendo-se uma concentração final de 1 mmol L^{-1} . Essa diferença observada pode ser atribuída às diferentes estruturas que podem ser observadas na **Figura 3**. Devido a presença dos dois grupos metila no anel da nitrona **1**, a molécula se torna mais apolar e com isso, apresenta uma menor solubilidade comparada à nitrona **2**, que apresenta um anel piridínico, possibilitando uma solvatação devido a uma possível ligação de hidrogênio da água com o nitrogênio do anel.

Um método proposto para melhorar a solubilidade das nitronas foi realizar o encapsulamento com polímero. Porém, como as nitronas são pouco solúveis em meio aquoso, não ocorreria um encapsulamento eficiente por falta de área de contato. Uma solução para aumentar essa interação foi a de solubilizar a nitrona em metanol e depois adicionar a solução de polímero, deixando o encapsulamento mais eficiente.

Após a obtenção das nitronas encapsuladas, repetiu-se o teste de solubilidade para verificar se realmente houve alteração na solubilidade das moléculas. Os resultados obtidos podem ser visualizados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Concentrações dos testes de solubilidade das nitronas puras e encapsuladas.

Nitrona	Concentração / mmol L ⁻¹	
	Pura	Encapsulada
1	0,1	0,9
2	1	10

O encapsulamento se mostrou eficiente frente ao uso da molécula pura, visto que foi observado o aumento na solubilidade da nitrona em meio aquoso em cerca de 10 vezes.

Partindo para as análises dos espectros obtidos para as moléculas **1** e **2**, inicialmente pelos espectros de absorção na região do visível, foi observado que a banda de absorção da molécula **1** (**Figura 4**) encapsulada aumenta com o passar do tempo, indicando uma interação do polímero com a água pelo processo de solvatação, que libera a molécula no meio, aumentando assim sua concentração. Essa característica é bastante interessante por apresentar um perfil de liberação controlada no meio.

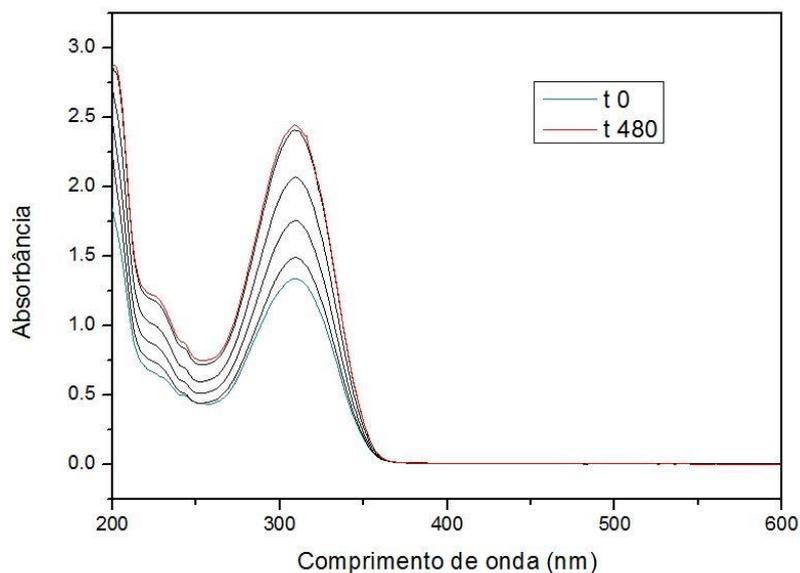


Figura 4 - Espectro de absorção na região do visível do ensaio de liberação em água deionizada da molécula **1** encapsulada em diferentes tempos (t em minutos)

Em comparação ao espectro da molécula **1** encapsulada, o espectro obtido com a análise da mistura física mostrou que não houve uma liberação tão eficiente no meio com o decorrer do tempo (**Figura 5**), visto que, não houve aumento significativo do valor de absorbância na banda característica, indicando a necessidade do procedimento de solubilizar em solvente e adicionar o polímero em solução para que haja interação para ocorrer o encapsulamento.

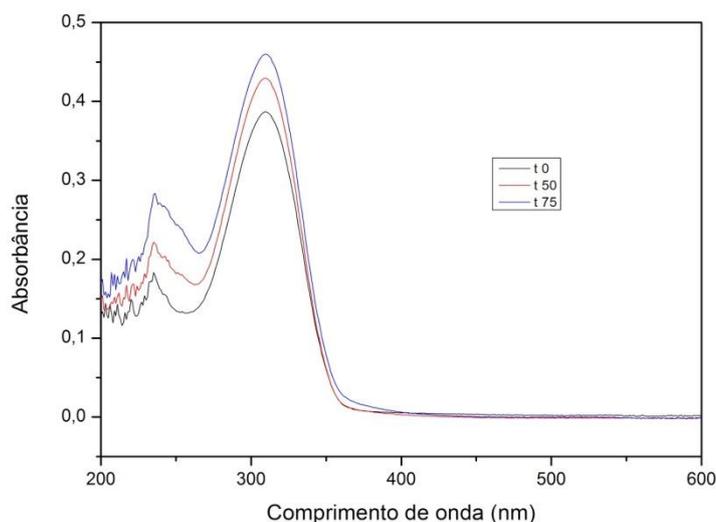


Figura 5 - espectro de absorção na região do visível do ensaio de comportamento da molécula **1** em uma mistura física com o polímero, sem o processo de encapsulamento (t em minutos).

A molécula **2** também apresentou o aumento na banda de absorção com o decorrer do tempo, como pode ser visto na **Figura 6**, indicando a interação eficiente com o polímero no processo de encapsulamento. Porém, o comportamento não foi tão semelhante ao da molécula **1**, que apresentou uma liberação proporcional ao tempo passado. No caso da molécula **2**, a banda apresenta sua maior absorbância logo nos primeiros trinta minutos e, após esse tempo, começa a decair, indicando uma possível degradação ou nova interação com o polímero.

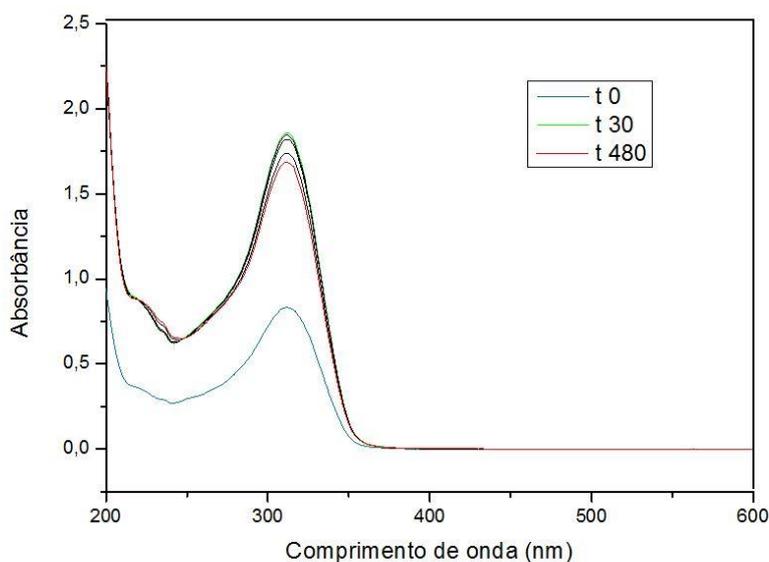
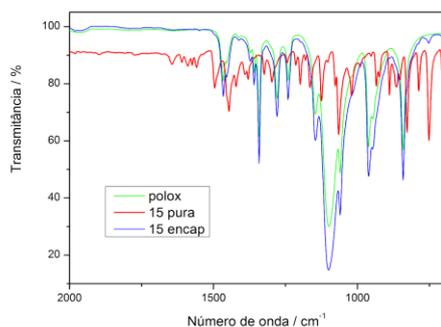
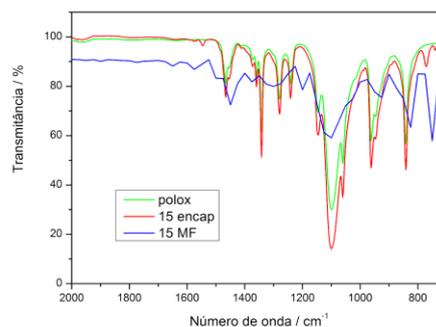


Figura 6 - Espectro de absorção na região do visível do ensaio de liberação em água deionizada da molécula 2 encapsulada, em diferentes tempos (t em minutos).

Tendo em vista a dificuldade de executar experimentos de difração raios-x e microscopia, a técnica de infravermelho foi utilizada para tentar avaliar diferenças entre as amostras preparadas. Considerando as bandas características das nitronas em 1547 cm^{-1} e em 1067 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação dupla carbono-nitrogênio ($\nu(\text{C}=\text{N})$) e ao estiramento da ligação nitrogênio-oxigênio ($\nu(\text{N}\rightarrow\text{O})$), respectivamente, e as bandas características do Poloxamer® em, aproximadamente, 1100 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} e em 2900 cm^{-1} , que correspondem ao estiramento da ligação carbono-oxigênio ($\nu(\text{C}-\text{O})$) característico de éteres alifáticos, à deformação angular do grupo metila e à deformação axial do hidrogênio das hidroxilas, respectivamente. A partir dos dados obtidos, foram feitas comparações dos perfis dos espectros (Figura 7).



(a)

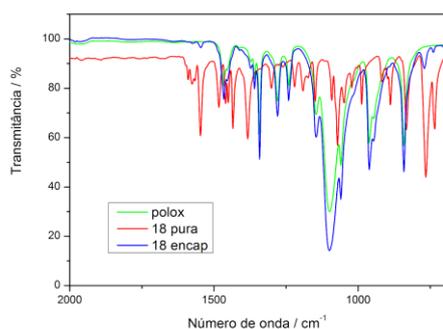


(b)

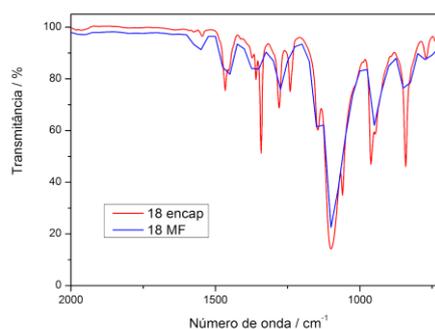
Figura 7 – Espectros de infravermelho comparando: (a) o polímero puro, a molécula **1** e a molécula **1** encapsulada e (b) o polímero puro, a molécula **1** encapsulada e mistura física entre polímero e molécula **1**. (recorte dos espectros de 2000-700 cm^{-1} para melhor visualização).

Comparando as bandas dos espectros (**Figura 7a**), foi observado que as da molécula encapsulada foram sobrepostas pelas bandas do polímero, indicando um possível encapsulamento da molécula, pois como o polímero está em concentração muito acima comparado à concentração da molécula, não há confirmação se realmente ocorreu o encapsulamento ou se somente ocorreu a sobreposição das bandas observadas.

Na **Figura 7b** nota-se que no espectro da mistura física entre molécula e polímero há um comportamento diferente da molécula encapsulada. As bandas apresentam um formato diferente, com uma banda larga, indicando que há outro tipo de interação entre nitrona e polímero.



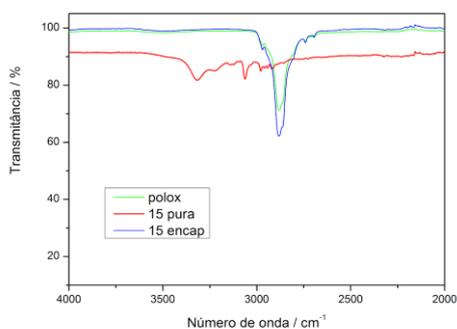
(a)



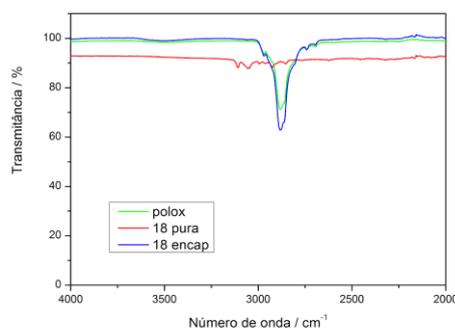
(b)

Figura 8 – Espectros de infravermelho comparando: (a) o polímero puro, a molécula **2** e a molécula **2** encapsulada e (b) a molécula **2** encapsulada com a mistura física entre polímero e molécula **2**. (recorte dos espectros de 2000-700 cm^{-1} para melhor visualização).

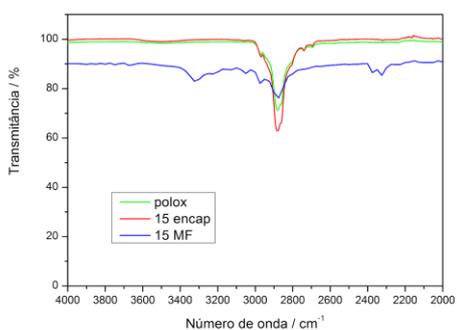
De forma análoga, os espectros de infravermelho da molécula **2** apresentaram os mesmos comportamentos da molécula **1**, observando a sobreposição dos picos característicos da nitrona pelo polímero (**Figura 8a**) e a aparição de bandas mais largas no espectro da mistura física, indicando algum outro tipo de interação entre molécula e polímero (**Figura 8b**).



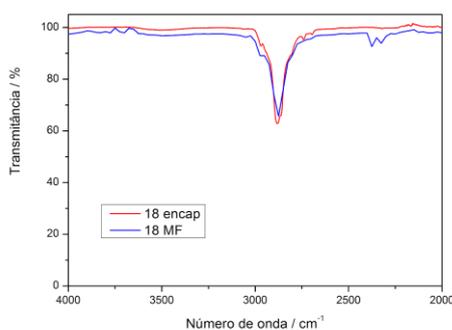
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 9 - Espectros de infravermelho comparando: (a) o polímero puro, a molécula 1 e a molécula 1 encapsulada, (b) o polímero puro, a molécula 2 e a molécula 2 encapsulada, (c) o polímero puro, a molécula 1 encapsulada e a mistura física entre molécula 1 e polímero e (d) a molécula 2 encapsulada com a mistura física entre a molécula 2 e o polímero. (recorte dos espectros de 4000-2000 cm^{-1} para melhor visualização).

Na região próxima de 3100 cm^{-1} também ocorre a sobreposição das bandas características da nitrona pelas bandas do polímero (**Figuras 9a e 9b**) indicando um possível encapsulamento e a formação de bandas mais largas evidenciando outro tipo de interação entre molécula e polímero (**Figuras 9c e 9d**).

5. Conclusão

O desenvolvimento do método para encapsulamento polimérico de nitronas obteve êxito, aumentando a solubilidade das nitronas estudadas e proporcionando uma melhor forma de utilizá-las em estudos *in vivo* sem o uso de co-solventes para aumentar sua concentração em meio aquoso. A solubilidade das nitronas é afetada pelos substituintes de seus anéis, o que fica evidenciado pelos resultados obtidos. Para ter-se uma certeza do tipo de interação que ocorre entre molécula e polímero, necessitaria de análises mais específicas, como raios-x e microscopia que apresentam maior resolução.

6. Referências bibliográficas

- [1] SINGH, M.N., HEMANT, K.S.Y., RAM, M., SHIVAKUMAR H.G. Res Pharm Sci. Jul-Dec; v.5, n.2, p. 65–77, 2010.
- [2] DUMITRIU, S. In: Polymeric biomaterials , Marcel Dekker: New York, 1994.

- [3] COELHO e col. 2010, TIWARI e col. 2012, LANGER e PEPPAS, 2003, LANGER, 1984.
- [4] ROCHA-SELMÍ, G. A. et al. Double emulsion stage prior to complex coacervation process for microencapsulation of sweetener sucralose. *Journal of Food Engineering*, v. 119, p. 28-32, 2013^a.
- [5] SOUZA, V. B. et al. Functional properties and stability of spray-dried pigments from bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. *Food Chemistry*, v.164, p.380-386, 2014.
- [6] DE VOS, P. et al. Encapsulation for preservations of functionality and targeted delivery of bioactive food componentes. *International Dairy Journal*, v. 20, p. 292-302, 2010.
- [7] PINHO, E. et al. Cyclodextrins as encapsulation agentes for plant bioactive compounds. *Carbohydrate Polymers*, v. 101, p. 121-135, 2014.
- [8] WURSTER, D. E. Air suspension coating process in vertical tower - having coarse and fine screened grid to induce cyclic flow in suspended bed due to unequal air flow US3253944-A, 1964.
- [9] ULERY, B. D., LAKSHMI S. N., LAURENCIN, C.T. *J Polym Sci B Polym Phys*. v.49, n.12, p.832–864, 2011.
- [10] NOKHODCHI, A., RAJA, S., PATEL, P., ASARE-ADDO, K. *BioImpacts*, v.2, n.4, 175-187, 2012.
- [11] COSTA, P., LOBO, S. *Rev. Port. Farm.*, v. 59, n. 4, p. 181-190, 1999.
- [12] DE AZEVEDO, M. M. M., BUENO, M. I. M. S., DAVANZO, C. U., GALEMBECK, F. J. *Colloid Interf. Sci.*, v.1, n.248, p.185-193, 2002.
- [13] ALOYS, H., KORMA, S.A., TUYISHIME, M. A., NYINAWUMUNTU, C., ABDELMONEIM H. A., SHERIF, M. A., HABINSHUTI, I. *American J of Food Sci and Nut Res*. v. 3, n.6, p.188-192, 2016.

- [14] Y. Shachaf, M. Gonen-Wadmany, D. Seliktar, *Biomaterials* 2010, 31, 2836-2847
- [15] MATIAS, A. C.; BIAZOLLA, G.; CERCHIARO, G., KEPPLER, AF. F., *Bioorg. & Med. Chem.* 2016, 24, 232-239.
- [16] DURAND, G. et. al, *J. Org. Chem.* 2017, 82, 135-142.
- [17] CASSIEN, M. et. al, *Eur. J. Med. Chem.* v. 119, p. 197-217, 2016.
- [18] ROSSELIN, M. et. al, *J. Org. Chem* 2014, 79, 6615-6626.
- [19] RIZZI, C. et. al, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2*, 1997,2, 2513-2518.