

## **Impressão 3D de estruturas híbridas de base biopolimérica com propriedades antimicrobianas**

Mariana Sofia Coelho Patornilo

Trabalho Final de Mestrado para obtenção do grau de  
Mestre em Engenharia Biomédica

### Orientadores

Professora Doutora Ana Catarina Cardoso de Sousa (ISEL)  
Professor Doutor Ivo Manuel Ferreira de Bragança (ISEL)

### Júri

Presidente: Professor Doutor Manuel José de Matos  
Vogais: Professor Doutor Alexander M. Kirillov  
Professora Doutora Ana Catarina Cardoso de Sousa

Maio de 2022



## Agradecimentos

Em primeiro, à minha orientadora Professora Doutora Ana Catarina Sousa, por me ter dado a oportunidade de fazer parte deste projeto. Por toda a disponibilidade, por toda a ajuda, pela paciência, prestada ao longo de todo o trabalho.

Ao meu orientador Professor Doutor Ivo Bragança, pelo auxílio, disponibilidade e apoio demonstrado na realização deste trabalho.

À Professora Doutora Sónia Martins, do Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, pelo apoio e disponibilidade na realização dos ensaios microbiológicos.

Agradeço ao Instituto Superior de Engenharia de Lisboa e Área Departamental de Engenharia Química pela realização do trabalho experimental no Laboratório de Química Inorgânica, ao Centro de Química Estrutural, do Instituto Superior Técnico, por disponibilizar o acesso aos equipamentos de FTIR-ATR, TGA, RMN e espectrometria de massa e à Área Departamental de Tecnologia Mecânica e Gestão Industrial, do Instituto Superior Técnico, por disponibilizar o acesso ao equipamento de ensaios de tração. Agradeço também ao Instituto Politécnico de Lisboa pelo apoio financeiro através do projeto IPL/2020/HyBioPol\_ISEL.

À Rafaela Cabral, que se tornou para além de colega de laboratório uma amiga, por toda, mas mesmo toda a ajuda, por toda a paciência (sei que por vezes sou um pouco chata principalmente quando entra a química à sério), por todo o apoio, incentivo, por estares lá sempre em meu socorro e pelo carinho.

Ao Mohamed Soliman, pela disponibilidade em todos os momentos e pela ajuda.

À minha amiga Inês Martins, por tudo mesmo, principalmente o apoio e entreajuda, este mestrado não seria a mesma coisa sem uma companhia antiga.

Por fim, mas não menos importante agradeço imenso à minha família, por todo o esforço, pela compreensão, pelos conselhos e por me fazerem ver que não há nada que não conseguimos por mais difícil que possa ser.

A todos os que direta ou indiretamente me deram apoio e motivação.

Muito obrigada!



## Resumo

Com o advento dos materiais naturais e biocompatíveis, novas possibilidades surgiram para as indústrias farmacêutica e dos dispositivos médicos e, atualmente, muitas dessas macromoléculas são utilizadas no desenvolvimento de novos produtos. A biocompatibilidade e não toxicidade são propriedades chave para que diferentes biopolímeros possam ser utilizados em aplicações médicas. No caso particular de sistemas de liberação de fármacos ou substâncias biologicamente ativas a taxa de liberação do composto ativo é, também, um parâmetro chave. Grande parte destes materiais usados para a liberação controlada, são constituídos por matrizes de base biopolimérica, visto estes se mostrarem versáteis e promissores, demonstrando ser capazes e apropriados para controlar a liberação e sustentar a ação terapêutica ao longo do tempo.

Neste contexto, este trabalho foi desenvolvido de forma a cumprir dois objetivos principais:

1) Produção de materiais híbridos biocompatíveis, em filme e peças 3D, fabricados com resinas naturais, derivadas do óleo de soja, e com álcool polivinílico de forma a estudar o modelo de liberação de diferentes compostos terapêuticos, disponibilizados comercialmente, nomeadamente o ácido acetilsalicílico, o paracetamol, o diclofenaco e a tetraciclina;

2) Produção de filmes de resina, derivada do óleo de soja, dopados com compostos da família das naftoquinonas, com potenciais propriedades antimicrobianas.

No cumprimento do primeiro objetivo verificou-se que, para todas as matrizes estudadas, a taxa de liberação dos compostos ativos mostrou-se dependente da massa molecular do composto incorporado, tendo-se obtido valores mais elevados de liberação, em menor tempo, para os compostos com menor massa molecular.

No cumprimento do segundo objetivo verificou-se que, apesar dos compostos estudados terem revelado ação antimicrobiana, os respetivos materiais híbridos produzidos não apresentaram a liberação esperada.

**Palavras-chave:** Liberação controlada; Resinas de soja; Materiais híbridos; Impressão 3D.



## Abstract

With the advent of natural and biocompatible materials, new possibilities have emerged for the pharmaceutical and medical device industries and, nowadays, many biodegradable and biocompatible macromolecules and natural biopolymers, are used in the development of new products. Biocompatibility and non-toxicity are key properties that allow their use for medical applications. In the specific case of drug delivery systems, the active compound release rate is the key parameter. Owing to their versatility and their ability to form adequate matrices, that allow an efficient release over time, biopolymers are good candidates to produce drug delivery systems.

Within this frame this work was developed with two main objectives:

- 1) Production of biocompatible hybrid materials, as film and 3D pieces, manufactured with natural soybean oil derived resins, and polyvinyl alcohol to study the release model of different commercially available therapeutic compounds, namely acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac and tetracycline.
- 2) Production of soybean oil resin films doped with naphthoquinone derived compounds, with potential antimicrobial properties.

In fulfilling the first objective, it was found that, for all matrices studied, release rates were drug dependent, with compounds with lower molecular weight showing higher rates, in shorter times.

In fulfilling the second objective, it was found that, although the naphthoquinone derivatives studied compounds showed antimicrobial action, the respective produced hybrid materials did not present the expected release.

**Keywords:** Drug delivery systems; Soybean oil resins; Hybrid materials; 3D print.



## Lista de Abreviaturas

<b>AAS</b>	Ácido acetilsalicílico
<b>ATR</b>	Refletância total atenuada ( <i>Attenuated Total Reflection</i> )
<b>CAD</b>	Desenho assistido por computador ( <i>Computer-Aided Design</i> )
<b>DCF</b>	Diclofenaco
<b>DLP</b>	Processo de Luz Digital ( <i>Digital light processing</i> )
<b>FTIR</b>	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier ( <i>Fourier Transform Infrared spectroscopy</i> )
<b>OSAE</b>	Óleo de soja acrilado epoxidado
<b>PCT</b>	Paracetamol
<b>PVA</b>	Álcool polivinílico
<b>SLA</b>	Estereolitografia ( <i>Stereolithography</i> )
<b>TGA</b>	Termogravimetria
<b>TTC</b>	Tetraciclina
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>UV-vis</b>	Ultravioleta-visível
<b>3D</b>	Tridimensional



# Índice Geral

Agradecimentos .....	i
Resumo.....	iii
Abstract.....	v
Lista de Abreviaturas.....	vii
Índice Geral.....	ix
Índice de Figuras.....	xii
Índice de Tabelas .....	xiv
1. Introdução.....	1
1.1. Sistemas de libertação controlada .....	2
1.2. Materiais híbridos para libertação de substâncias ativas .....	4
1.3. Materiais Híbridos.....	5
1.4. Resinas .....	5
1.5. Álcool polivinílico .....	7
1.6. Impressão 3D .....	8
1.6.1. Impressão 3D por estereolitografia .....	11
1.7. Fármacos .....	12
1.7.1. Paracetamol.....	13
1.7.2. Ácido acetilsalicílico .....	13
1.7.3. Diclofenac.....	14
1.7.4. Tetraciclina .....	15
1.7.5. Naftoquinonas e seus derivados.....	16
2. Materiais e Métodos .....	19
2.1. Reagentes.....	20
2.2. Preparação dos filmes .....	21
2.2.1. Produção dos filmes e peças 3D de resina .....	21
2.2.2. Produção dos filmes de PVA.....	22
2.3. Ensaios de absorção de água.....	23

2.4.	Espectrofotometria Ultravioleta-Visível .....	23
2.5.	Ensaio de liberação controlada .....	24
2.6.	Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada.....	24
2.7.	Microscopia Ótica .....	24
2.8.	Termogravimetria.....	24
2.9.	Ensaio de tração .....	25
2.10.	Ensaio microbiológicos .....	26
3.	Resultados e Discussão .....	27
3.1.	Produção e caracterização de filmes e peças 3D .....	27
3.1.1.	Filmes de resina Anycubic®.....	27
3.1.2.	Filmes de PVA .....	28
3.1.3.	Peças em 3D .....	29
3.2.	Análise morfológica por microscopia ótica .....	29
3.2.1.	Filmes de resina Anycubic®.....	30
3.2.1.	Filmes de PVA .....	30
3.2.1.	Peças 3D.....	31
3.3.	Análise de FTIR-ATR.....	32
3.3.1.	Filmes de resina Anycubic®.....	32
3.3.1.	Filmes de PVA .....	33
3.4.	Análise Termogravimétrica .....	34
3.5.	Ensaio de Liberação Controlada .....	36
3.5.1.	Filmes de resina Anycubic®.....	37
3.5.1.	Filmes de PVA .....	39
3.5.2.	Peças 3D.....	40
3.5.3.	Filmes de Resina OSAE .....	42
3.5.4.	Análise conjunta dos resultados de liberação .....	43
3.6.	Ensaio de absorção de água.....	44

3.7. Ensaio de tração .....	45
3.8. Produção e caracterização de filmes incorporados com naftoquinonas .....	47
4. Conclusões e Perspetivas Futuras.....	53
5. Referências Bibliográficas .....	57
Anexos.....	63
Anexo 1. Espectros de FTIR-ATR das amostras de resina e de PVA com os fármacos, aspirina, diclofenaco e tetraciclina .....	63
Anexo 2. Perfis de libertação em função do tempo nas peças 3D de diferentes modelos .....	66

## Índice de Figuras

<b>Figura 1-</b> Perfis típicos de níveis de substâncias ativas no com dose única, dosagens múltiplas e sistema de libertação controlada <sup>5</sup> .....	2
<b>Figura 2-</b> Epoxidação do óleo de soja <sup>29</sup> .....	7
<b>Figura 3 –</b> Estrutura química do PVA.....	7
<b>Figura 4-</b> Sistemas de entrega de fármacos fabricados aditivamente e os seus diferentes usos disponíveis no corpo humano <sup>41</sup> .....	10
<b>Figura 5 –</b> Diagrama esquemática de impressão por SLA/DLP <sup>4</sup> .....	11
<b>Figura 6-</b> Estrutura molecular do paracetamol .....	13
<b>Figura 7 –</b> Estrutura química do ácido acetilsalicílico.....	14
<b>Figura 8-</b> Estrutura molecular do diclofenaco de sódio .....	15
<b>Figura 9-</b> Estrutura molecular da tetraciclina.....	16
<b>Figura 10 -</b> Estrutura molecular da <b>A)</b> 1,4-naftoquinona e <b>B)</b> 1,2-naftoquinona .....	16
<b>Figura 11 -</b> Esquema do desenvolvimento do trabalho experimental por fases .....	19
<b>Figura 12 –</b> Possível estrutura química da resina Anycubic® .....	20
<b>Figura 13 -</b> Esquema da produção de <b>A)</b> filmes; <b>B)</b> Peças 3D.....	21
<b>Figura 14 –</b> Impressora 3D; <b>A)</b> Tanque original; <b>B)</b> Tanque desenvolvido.....	22
<b>Figura 15 – A)</b> Ensaio de tração com um filme de PVA; <b>B)</b> Adaptação das garras; ....	25
<b>Figura 16 -</b> Filmes de resina Anycubic®; <b>A)</b> R-C; <b>B)</b> R-TTC.....	28
<b>Figura 17-</b> Filmes de PVA; <b>A)</b> PVA-C; <b>B)</b> PVA-TTC. ....	28
<b>Figura 18 – A)</b> Impressora Anycubic®; <b>B)</b> Peças impressas no dispositivo de microespelho digital; <b>C)</b> Resultado da impressão; <b>D)</b> Modelos impressos. ....	29
<b>Figura 19-</b> Imagens microscópicas da resina com uma ampliação de 100x; <b>A)</b> R-C; <b>B)</b> R-PCT com uma ampliação de 50x; <b>C)</b> R-AAS; <b>D)</b> R-DCF; <b>E)</b> R-TTC. ....	30
<b>Figura 20 –</b> Imagens microscópicas de PVA com uma ampliação de 50x; <b>A)</b> PVA-C; <b>B)</b> PVA-PCT; <b>C)</b> PVA-AAS; <b>D)</b> PVA-DCF; <b>E)</b> PVA-TTC. ....	31
<b>Figura 21 -</b> Imagens microscópicas das peças impressas em 3D com ampliação de 50x; <b>A)</b> Resina menos espessa; <b>B)</b> Resina mais espessa.....	32
<b>Figura 22 –</b> Espetros de FTIR-ATR do paracetamol, filme R-PCT e filme R-C. ....	33
<b>Figura 23 –</b> Espetros de FTIR-ATR do paracetamol, filme PVA-PCT e filme PVA-C. ....	34
<b>Figura 24 –</b> Termogramas dos filmes de resina Anycubic® controlo e incorporados com os fármacos PCT, AAS, DCF e TTC. ....	35
<b>Figura 25 –</b> Termogramas dos filmes de PVA controlo e dopados com os fármacos PCT, AAS, DCF e TTC.....	36

<b>Figura 26</b> – Espectros de UV-vis (em etanol) dos fármacos usados no estudo; <b>A)</b> Paracetamol ( $1,32 \times 10^{-4}$ M); <b>B)</b> Ácido acetilsalicílico ( $2,22 \times 10^{-3}$ M); <b>C)</b> Diclofenaco ( $9,00 \times 10^{-5}$ M); <b>D)</b> Tetraciclina ( $2,25 \times 10^{-5}$ M).....	37
<b>Figura 27</b> - Perfis de libertação, em etanol, dos fármacos incorporados nos filmes de resina Anycubic®, em função do tempo. ....	38
<b>Figura 28</b> - Perfis de libertação, em etanol, dos fármacos incorporados nos filmes de PVA em função do tempo.....	39
<b>Figura 29</b> - Perfis de libertação, em etanol, dos fármacos incorporados nas peças 3D de resina Anycubic® lisas de maior espessura produzidas, em função do tempo. ....	41
<b>Figura 30</b> –Perfis de libertação, em etanol, dos fármacos incorporados nos filmes de resina OSAE, em função do tempo. ....	42
<b>Figura 31</b> – Absorção de água dos filmes de resina Anycubic® controlo e incorporados com os compostos após 24 h.....	45
<b>Figura 32</b> - Gráfico representativo dos resultados obtidos nos ensaios de resistência à tração dos filmes de resina Anycubic® controlo e incorporados com os fármacos PCT, AAS, DCF e TTC; <b>A)</b> Resistência à tração máxima; <b>B)</b> Extensão máxima. ....	46
<b>Figura 33</b> - Gráfico representativo dos resultados obtidos nos ensaios de resistência à tração dos filmes de PVA controlo e incorporados com os fármacos PCT, AAS, DCF e TTC; <b>A)</b> Resistência à tração máxima; <b>B)</b> Extensão máxima. ....	47
<b>Figura 34</b> – Estruturas químicas dos derivados da 1,2-naftoquinona; <b>1)</b> 4-(4-aminofenol)-1,2-naftoquinona; <b>2)</b> 4-(4-metoxianilina)-1,2-naftoquinona; <b>3)</b> 4-(4-cloroanilina)-1,2-naftoquinona. ....	48
Figura 35 - Estrutura química da gentamicina. ....	48
<b>Figura 36</b> - Resultados obtidos com 2 mg de composto para <b>A e D)</b> composto 1; <b>B e E)</b> composto 2; <b>C e F)</b> composto 3.contra ambas as estirpes <i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i> ; .....	49
<b>Figura 37</b> - Filmes de resina Anycubic® incorporados com <b>A)</b> R-OH-1; <b>B)</b> R-OCH <sub>3</sub> -2. ....	50
<b>Figura 38</b> - Imagens microscópicas dos filmes de resina com uma ampliação de 100x; <b>A)</b> R-OH; <b>B)</b> R-OCH <sub>3</sub> .....	51
<b>Figura 39</b> – Ensaio antimicrobianos; <b>A e E)</b> Filmes R-C; <b>B e F)</b> Filmes R-G; <b>C e G)</b> Filmes R-OH-1; <b>D e H)</b> Filmes R-OCH <sub>3</sub> -2.....	51

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Características da Resina Ancyubic® <sup>26</sup> .....	6
<b>Tabela 2</b> – Características da Resina Ancyubic® <sup>26</sup> .....	20
<b>Tabela 3</b> - Filmes de resina Ancyubic® e de PVA produzidos.....	27
<b>Tabela 4</b> – Resultados de liberação, em etanol, dos diferentes fármacos incorporados nos diferentes materiais produzidos, no final de 24 h. ....	43
<b>Tabela 5</b> – Filmes de resina Ancyubic® incorporados com os compostos <b>1</b> e <b>2</b> e a gentamicina.....	50



## 1. Introdução

A evolução crescente da sociedade moderna e os avanços tecnológicos no ramo dos materiais têm conduzido ao desenvolvimento de novos materiais, com um conjunto de propriedades que, geralmente, não são encontradas em materiais convencionais. Estes materiais designados de materiais compósitos, são obtidos através da combinação de dois ou mais materiais, designados de matriz e reforço, compatíveis quimicamente e imiscíveis, cuja combinação resulta num material com propriedades físico-químicas, mecânicas e/ou térmicas superiores aos materiais que lhe deram origem <sup>1</sup>. A maioria destes materiais, possuem uma matriz polimérica, e apresentam-se como uma opção de propriedades e características multifuncionais melhoradas. Atualmente, os materiais compósitos são utilizados nos mais diferentes sectores, de onde se destacam aplicações nas embalagens de alimentos, têxteis, órgãos artificiais, sistemas de libertação controlada, na engenharia de tecidos, entre outras aplicações, permitindo o desenvolvimento de aplicações industriais inovadoras.

No campo das aplicações biomédicas, a utilização de materiais compósitos ou híbridos destaca-se fundamentalmente na produção de sistemas de libertação controlada de princípios ativos, que apresentam diversas vantagens quando comparados com os sistemas convencionais de administração de fármacos. Estas vantagens relacionam-se, essencialmente, com a libertação controlada e gradual da substância ativa, o que permite manter as concentrações libertadas sem grandes variações, ao longo do tempo.

Sistemas de libertação controlada podem ser usados, em membranas de libertação transdérmicas, revestimento de comprimidos, em géis, dispersões e para micro e nano partículas. Os sistemas transdérmicos são fabricados para atuarem sobre a pele, e podem ser divididos em sistemas reservatórios, onde a libertação do fármaco é controlada por uma membrana microporosa ou semipermeável e em sistemas matriciais, em que o fármaco é disperso num gel ou numa matriz polimérica, que controla a libertação do mesmo <sup>2</sup>.

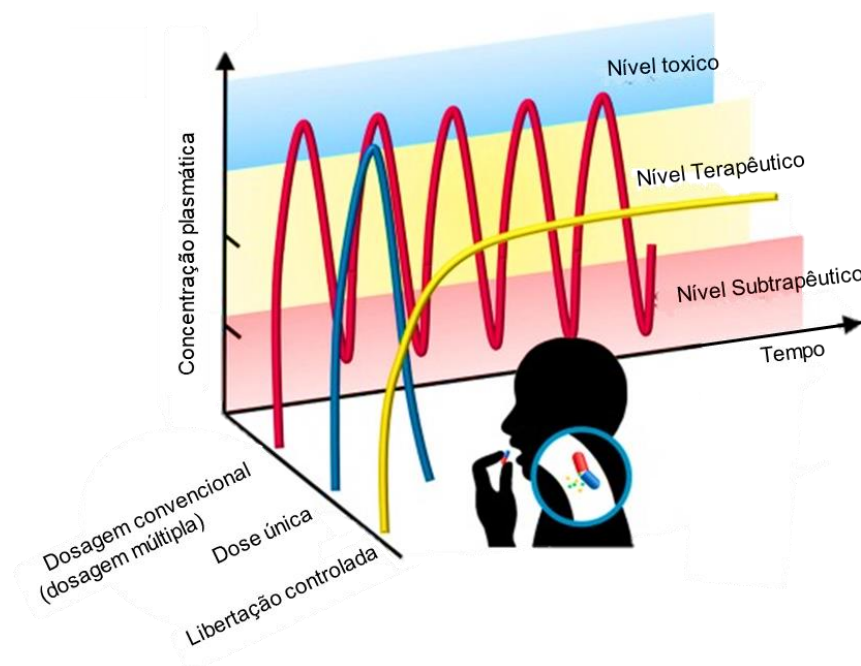
Dentro de muitas descobertas introduzidas no mercado farmacêutico e biomédico, acredita-se que a impressão tridimensional (3D) seja a mais revolucionária e poderosa. Esta técnica é reconhecida como uma ferramenta versátil na fabricação precisa de diversos dispositivos. Serve como uma tecnologia para o desenvolvimento de novas formas de dosagem, engenharia de tecidos e órgãos, bem como modelagem de doenças <sup>3</sup>.

A escolha da impressão 3D adequada para a construção desejada é influenciada pelas substâncias ativas e polímeros com propriedades diversas, bem como a geometria desejada de peça e o padrão de libertação do composto e por isso, as mais usadas incluem

a estereolitografia <sup>4</sup>. Atualmente o uso destas técnicas incluem sistemas multifuncionais de liberação de medicamentos com características de liberação acelerada, formas de dosagem ajustáveis e personalizadas, implantes e *phantoms* correspondentes à anatomia específica do paciente, bem como materiais baseados em células para medicina regenerativa <sup>3</sup>.

## 1.1. Sistemas de liberação controlada

Os sistemas de liberação controlada são um método de tratamento sofisticado que possibilita a entrega de uma dosagem terapêutica de substância ativa por um longo período de tempo, com uma única dose (Figura 1). Demonstra uma infinidade de vantagens, tais como o aprimoramento do desempenho terapêutico, diminuição significativa da toxicidade, fácil controle do período de administração, prevenção de efeitos colaterais, uma maior eficiência de estabilidade do medicamento, redução da necessidade de várias doses levando a uma melhor adesão pelo paciente e redução do custo do tratamento <sup>5</sup>.



**Figura 1-** Perfis típicos de níveis de substâncias ativas no com dose única, dosagens múltiplas e sistema de liberação controlada <sup>5</sup>

Ao longo dos anos, têm sido desenvolvidas variadas tecnologias de sistemas de liberação controlada e a melhoria deste tipo de sistemas depende da seleção de um agente apropriado capaz de controlar a liberação do fármaco e sustentar a ação terapêutica ao longo do tempo.

Dentre as várias opções para produção de sistemas libertadores de fármacos, os polímeros são agentes versáteis e promissores para exercer tais funções <sup>6</sup>.

Os polímeros estão a gerar um interesse significativo como sistemas de libertação de fármacos, visto melhorarem a eficácia terapêutica de muitos medicamentos de baixo peso molecular, quando são combinados. Tem também um papel essencial em aplicações biomédicas modernas, como para o desenvolvimento de novos e eficazes sistemas de entrega de fármacos, *scaffolds* multifuncionais para engenharia de tecidos, fabrico de revestimentos protetores e bioativos capazes de induzir ou moldar resposta biológica a produtos, entre outras aplicações <sup>7</sup>.

Existem pelo menos duas formas para combinar fármacos e polímeros, a mais simples é através da formação de matrizes poliméricas onde os fármacos são misturados fisicamente ou combinados, e é feita a sua libertação através de difusão da matriz envolvente ou por desintegração da mesma. A principal vantagem deste tipo de sistema é que o medicamento permanece inalterado na matriz polimérica e então as suas propriedades farmacológicas posteriormente à libertação permanecem intactas. Aplicações transdérmicas tem então demonstrado bastante interesse na comunidade científica e adquirido bastante importância nos últimos anos <sup>8</sup>.

Ainda assim, a escolha do polímero a usar como matriz dos filmes deve ter em consideração o tipo de libertação que irá ser estudada e ainda ter em conta a sua biodegradação, uma vez que influencia diretamente a cinética de libertação da substância ativa. O mecanismo através do qual a libertação acontece é ditado pela estrutura escolhida, pois o grau de porosidade do polímero prevalece na taxa de libertação da substância ativa, em que quanto maior a porosidade, maior a taxa de libertação <sup>9</sup>.

Podem então ser adicionados facilmente, substâncias ativas, dissolvidas ou dispersas no polímero e serem libertos através de mecanismos de libertação classificados em:

- Sistemas controlados por difusão o fármaco é dissolvido por difusão simples (ou disperso se a concentração exceder o limite de solubilidade do polímero) numa matriz não intumescida ou totalmente intumescida que não se degrada durante a sua vida terapêutica.
- Sistemas ativados por solvente como hidrogéis, em que uma vez expostos a um ambiente aquoso absorvem a água e liberam o fármaco.
- Sistemas biodegradáveis ocorre pela dissolução de fragmentos de cadeia em sistemas não reticulados sem alterações químicas na estrutura molecular, o polímero

absorve o solvente aquoso circundante e interage com a água através de interações de carga ou mecanismos de ligação de hidrogénio <sup>9</sup>.

## **1.2. Materiais híbridos para libertação de substâncias ativas**

Grande parte dos materiais híbridos atualmente produzidos para libertação controlada de substâncias ativas, são constituídos por matrizes à base de polímeros biocompatíveis.

Polímeros são macromoléculas formadas pela ligação química de um grande número de moléculas menores, ou unidades de repetição, denominadas monómeros, que podem variar muito na ordem, orientação e número <sup>10</sup>.

I. Polímeros Naturais: ocorrem amplamente na natureza ou são extraídos de plantas ou animais, sendo por isso biodegradáveis, tais como o quitosano, a celulose, o colagénio <sup>11</sup>.

II. Polímeros Semissintéticos ou artificiais: advêm de reações químicas a partir de polímeros naturais, através de adição de grupos polares, por enzimas ou reticulação, por exemplo derivados da celulose.

III. Polímeros Sintéticos: produzidos por ação do Homem a partir de reações químicas de polimerização, como o álcool polivinílico, poliacrilamida, polietileno, entre outros <sup>12</sup>.

Este tipo de materiais são muito bem conhecidos em aplicações avançadas há vários anos. São muitíssimo versáteis e apresentam variadas aplicações na área da biomédica, como produtos farmacêuticos, engenharia de tecidos, em cosmética e em matrizes de libertação de fármacos <sup>13</sup>.

A biocompatibilidade é uma das características mais importantes de um material polimérico cuja superfície interaja com um sistema biológico e, por isso, polímeros biocompatíveis são uma das classes mais investigadas no processo de desenvolvimento de materiais híbridos biológicos <sup>14</sup>. Nesses materiais, destacam-se como exemplos a celulose, o amido, o alginato, o quitosano, entre outros, por apresentarem características como ausência de toxicidade, elevada biocompatibilidade, baixos custos, boa adesão celular, e por isso o seu uso torna-se muito favorável e vantajoso para o desenvolvimento de materiais híbridos eficientes com propriedades específicas e desejadas <sup>15</sup>.

Ainda que os polímeros sejam materiais com ótimas propriedades, existem alguns aspectos a serem considerados em casos em que um único polímero não atende a requisitos de aplicações mais avançadas. Aí os compósitos poliméricos atraíram uma grande atenção mundialmente <sup>16</sup>.

### **1.3. Materiais Híbridos**

Materiais híbridos, ou compósitos, são constituídos pela combinação de dois ou mais materiais, matriz ou base e reforços ou materiais de enchimento, que não sejam miscíveis, quimicamente compatíveis e que apresentem propriedades mecânicas ou térmicas superiores. É uma adição heterogênea de dois ou mais materiais com diferentes composições, morfologia, propriedades físicas e químicas <sup>17</sup>.

Os materiais compósitos de matriz polimérica são usados frequentemente em várias aplicações biomédicas, em casos em que a fase de matriz ou base seja de um biopolímero natural ou polímero sintético, pelas boas características de biocompatibilidade, especialmente em medicina dentária, medicina regenerativa, engenharia de tecidos e fabricação de partes artificiais do corpo <sup>18</sup>.

Este tipo de matrizes podem incluir a celulose, o colágeno, o quitosano, o álcool polivinílico e vários tipos de resinas <sup>19</sup>.

### **1.4. Resinas**

As resinas são substâncias utilizadas como matéria-prima no fabrico de diferentes produtos e na composição de alguns plásticos e podem ser classificadas em dois grandes grupos:

I. Resinas naturais: são substâncias orgânicas amorfas, líquidas ou sólidas, transparentes ou coloridas, brilhantes, que são secreções externas do metabolismo de plantas. São formadas por álcoois e ésteres resínicos, ácidos resínicos, hidrocarbonetos e óleos essenciais. Tem principais aplicações em setores como vernizes de óleo, lacas, adesivos, a indústria do papel e a medicina.

II. Resinas sintéticas ou artificiais: são obtidas por polimerização e são produtos semelhantes às naturais, podem ser, por exemplo, acrílicas ou vinílicas e podem ainda ser modificadas com produtos naturais, tais como óleos gordos. Mantêm as qualidades das

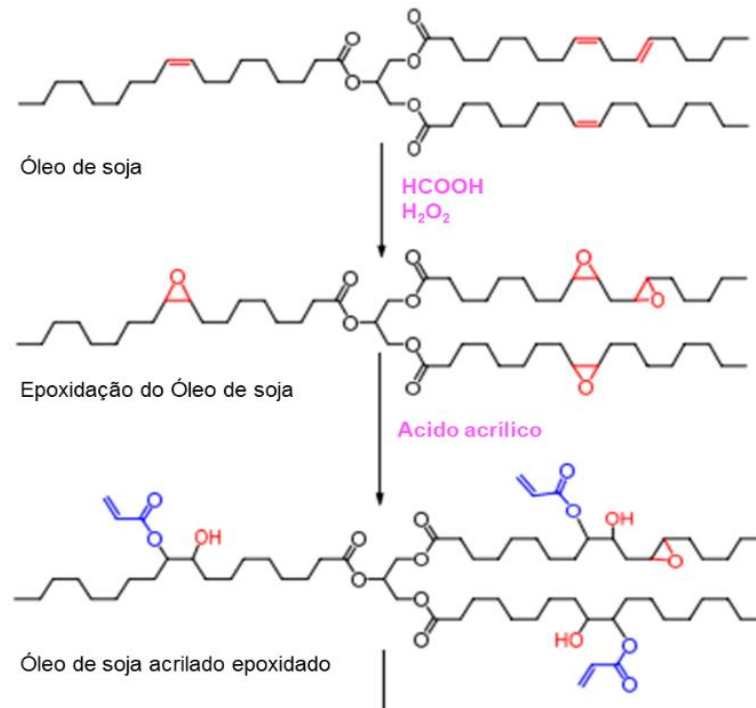
naturais, a mais importante a habilidade de endurecer com calor ou pressão e por isso têm aplicações semelhantes às suas análogas naturais <sup>20, 21</sup>.

Recentemente, verifica-se uma tendência crescente para o uso de resinas de origem em fontes naturais e renováveis <sup>22</sup>, de base biológica, destacando-se matérias primas como o milho, a cana-de-açúcar e os óleos vegetais, como exemplos. Estes últimos, devido à sua abundância, disponibilidade e baixos custos <sup>23</sup> são os mais utilizados na produção da maior parte das resinas naturais utilizadas. Particularmente os óleos de soja, linhaça e de mamona que, para além das características referidas, apresentam ainda excelente biocompatibilidade, ausência de toxicidade e elevada biodegradabilidade <sup>24,25</sup>. Na tabela 1 identifica-se algumas das principais características de um exemplo de resina derivada de óleos de soja.

**Tabela 1 - Características da Resina Anycubic® <sup>26</sup>**

<b>Características principais</b>	<b>Resinas Comuns</b>	<b>Resina Baseada em Plantas</b>
Odor da Resina	Cheiro intenso	Cheiro leve
Ingredientes	Industrial	Óleo de Soja
Faixa de comprimento de onda	405nm	355-410nm
Eco friendly	Não degrada facilmente	Biodegradável

A utilização de óleo de soja, no campo do desenvolvimento de matrizes termoendurecíveis de base biológica tem atraído grande interesse da comunidade científica <sup>27,28</sup>. Especialmente, o óleo de soja acrilado epoxidado (OSAE), que é sintetizado a partir do óleo de soja através de uma etapa de epoxidação seguida de acrilação, de acordo com o esquematizado na Figura 2.



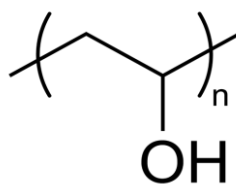
**Figura 2-** Epoxidação do óleo de soja <sup>29</sup>

Estas resinas termoendurecíveis, são caracterizadas como líquidos viscoso ou sólidos de baixo peso molecular que necessitam da adição de agentes de reticulação, como um endurecedor ou catalisador, para serem formulados e curados <sup>30</sup>.

Como são ainda do tipo fotossensível e são à base de uma combinação de acrilatos líquidos e por isso utilizadas em impressão 3D <sup>22</sup>.

## 1.5. Álcool polivinílico

O álcool polivinílico (PVA) é um polímero termoplástico, sintetizado a partir de polivinil acetato através da reação de hidrólise, quando totalmente hidrolisado e é composto por uma estrutura linear de hidrocarbonetos e grupos hidroxilo (-OH) na cadeia principal (Figura 3).



**Figura 3 –** Estrutura química do PVA

Devido à sua estrutura apresenta excelentes propriedades, como boa resistência à tração, ausência de toxicidade, eficiente resistência química, alta cristalinidade, baixa permeabilidade, resistência à abrasão, propriedades de barreira a gases e elevada capacidade de absorção de água, devido a isso, tem vindo a ter amplas perspectivas em áreas de materiais para embalagens de alimentos, têxteis, órgãos artificiais, géis médicos, para fios de cirurgia, revestimento de medicamentos e também como sistemas controlados de libertação de substâncias ativas <sup>31-33</sup>.

Todas estas diferentes aplicações se atribuem predominantemente às propriedades descritas e a sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e excelente facilidade de formação de filme. Normalmente este polímero é usado em compósitos para reduzir o custo do produto sem qualquer comprometimento ou parcialmente com as suas características e a composição hidrofílica, que consiste nos grupos hidroxilo da sua estrutura, que está bem ligada aos carboidratos, que criando uma concordância significativa em compósitos <sup>34</sup>. Estas funcionalidades hidroxilo no PVA, não só dizem respeito à hidrofiliabilidade do material, mas também aumentam a formação de ligações inter e intramoleculares entre os componentes dos materiais de matriz, por isso é um bom candidato a ser utilizado como matriz polimérica de sistemas de libertação de fármacos <sup>35</sup>.

### **1.6. Impressão 3D**

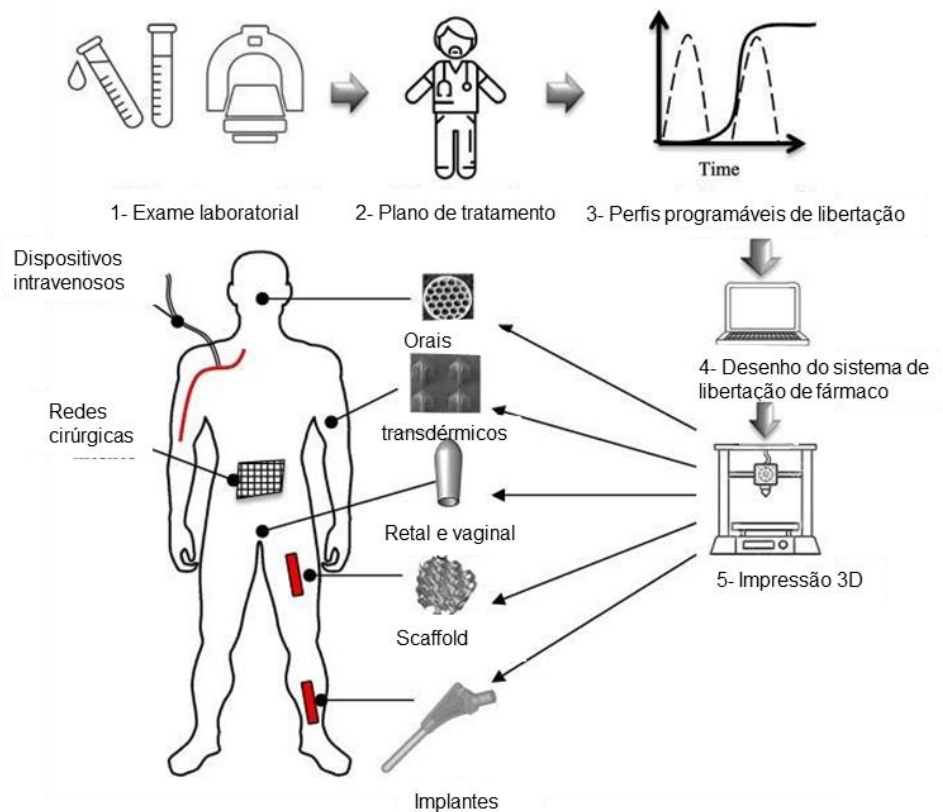
A impressão tridimensional, também conhecida como fabrico aditivo ou prototipagem rápida, é uma técnica que permite a produção de um objeto físico a partir de um arquivo digital auxiliado por um computador <sup>36</sup>. O processo é feito pela impressão do objeto desejado através da deposição de camada por camada de material (matéria-prima) sobre uma base, sendo que uma camada é sucessivamente adicionada a outra até o produto fique finalizado. A forma das peças pretendidas é criada a partir de um modelo 3D, desenhado num software de modelagem, em formato de desenho assistido por computador (CAD, *Computer-Aided Design*), ou então desenhado num programa específico, através de um scanner 3D, para produtos já concretizados. Ao ter o arquivo digital do protótipo no computador, ou digitalizado pelo scan 3D, o objeto pode ser repetido infinitas vezes, tanto no formato original ou num formato normalizado <sup>37,38</sup>. Estas técnicas de CAD e fabrico aditivo foram desenvolvidas para minimizar alguns erros associados ao processo de modelagem tradicional <sup>39</sup>.

Atualmente existem, no mercado, uma variedade de tecnologias de impressão 3D, permitindo a produção eficiente de objetos físicos tridimensionais e atendendo às necessidades crescentes de impressão de diferentes materiais, tais como a modelagem por deposição fundida, sinterização seletiva a laser, estereolitografia, impressão polyjet e processamento digital de luz <sup>22</sup>.

A impressão tridimensional está também a transformar paradigmas de produção na área da saúde e mais especificamente na área da medicina personalizada <sup>40</sup>, permitindo a personalização de tratamentos direcionados ao indivíduo.

Estas revoluções “afetado” também a indústria farmacêutica no processo de administração e distribuição de fármacos para medicamentos personalizados, tal como se pode ver na figura, onde uma substância ativa pode ser introduzida no corpo de um indivíduo através do uso de diversas técnicas para se obter um efeito biológico sistémico e tratar certas doenças <sup>41</sup>.

Um sistema de administração de substâncias ativas, por produção aditiva, começa com um exame laboratorial, que oferece dados úteis sobre a condição do indivíduo e os requisitos de design de forma que se obtenha uma dosagem centrada no paciente e um perfil de libertação programada. Posteriormente é realizado um plano de tratamento e criado o CAD do modelo digital desejado. Assim, o sistema de entrega é fabricado para ser administrado de diversas formas, tais como via oral, dispositivos intravenosos, através de supositórios, adesivos transdérmicos, implantes biomédicos e ainda *scaffolds*, como podemos verificar pela Figura 4.



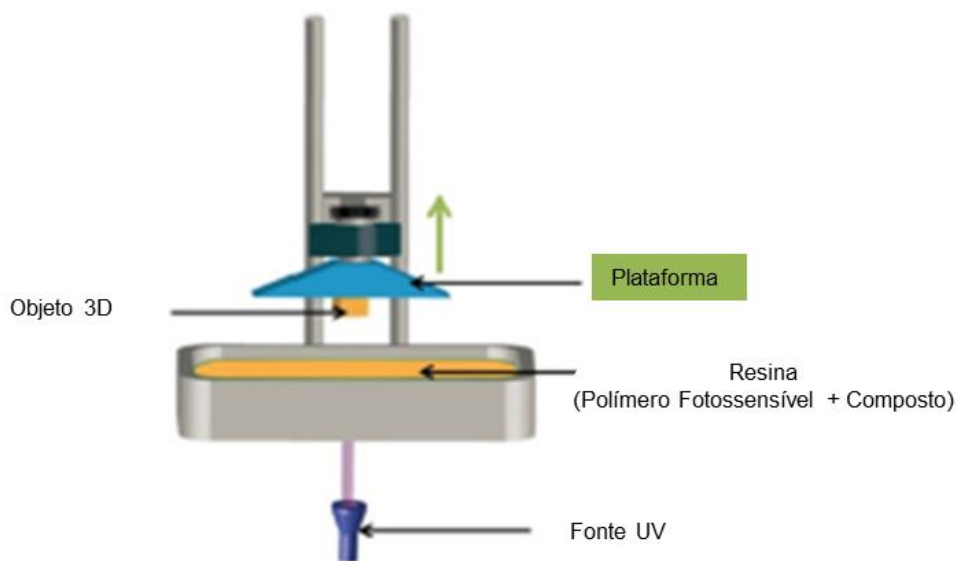
**Figura 4-** Sistemas de entrega de fármacos fabricados aditivamente e os seus diferentes usos disponíveis no corpo humano <sup>41</sup>

Tecnologias de cura ultravioleta (UV) estão a ser amplamente aplicadas em áreas tradicionais e de alta tecnologia, pois exibem vantagens económicas e ecológicas substanciais, incluindo a rápida formação de rede de polímero em temperatura ambiente, resultando numa libertação baixa de compostos orgânicos voláteis. Esta tecnologia pode ser classificada como um processo “verde” e seu uso para materiais de origem biológica pode ser de interesse prático <sup>42</sup>. Recentemente a impressão tridimensional tem sido também explorada como uma tecnologia potencialmente disruptiva para a fabricação de medicamentos e dispositivos médicos na área farmacêutica e medica. Como esta permite a construção de formas não convencionais, com designs personalizados, dosagens customizadas e características de libertação de fármacos, que não são possíveis realizar com os métodos de fabricação tradicionais e, por isso permite uma forma única de fabrico de medicamentos personalizados <sup>43</sup>.

### 1.6.1. Impressão 3D por estereolitografia

A estereolitografia (SLA), uma das primeiras tecnologias de manufatura aditiva, utiliza resinas de base epóxi ou acrílicas ou polímeros fotossensíveis e uma fonte de luz, com comprimentos de onda entre 350 e 405 nm, para imprimir peças altamente detalhadas num processo camada por camada. Esta técnica corresponde a quase metade do mercado de manufatura aditiva estando a tornar-se um método económico para produzir peças de alta precisão com boas propriedades químicas, mecânicas e térmicas <sup>44</sup>.

A impressão por processamento de luz digital (DLP) é um tipo de SLA, a principal diferença é que o SLA é baseado em laser e o DLP usa uma projeção de luz ultravioleta através de um projetor digital criando uma única imagem da camada em toda a resina de uma só vez. Um dos principais componentes do DLP é um chip de dispositivo de microespelho digital. Este é composto por uma matriz de microespelhos de alumínio reflexivos que redirecionam a luz recebida da fonte UV para projetar uma imagem com um padrão projetado ou uma camada de um modelo CAD 3D (Figura 5).



**Figura 5** – Diagrama esquemática de impressão por SLA/DLP <sup>4</sup>

Para fabricar uma estrutura de alta resolução, é fundamental configurar os parâmetros, como o tempo de cura de cada camada, a espessura da camada e a intensidade da luz UV. Esses parâmetros são altamente dependentes da concentração e dos tipos de fotopolímero e fotoiniciador usados para resinas <sup>45</sup>.

Originalmente disponível apenas em ambientes industriais, as tecnologias de impressão SLA e DLP tornaram-se acessíveis para pequenas empresas, manufatura leve

e consumidores. As resinas e epóxis de acrilato fotocuráveis que foram usadas há duas décadas continuam a ser o padrão nos sistemas SLA e DLP atuais <sup>46</sup>.

As propriedades destas resinas líquidas conferem aos objetos obtidos por SLA características de alta resolução, peças com superfícies lisas, boa resistência da camada e alta velocidade de fabrico <sup>22</sup>. Ainda assim, disponibilidade comercial de resinas líquidas adequadas a este tipo de técnicas é limitada e esta é considerada uma das principais limitações da mesma, pois para a fabricação de peças com aplicações medicinais é necessário que a resina possua propriedades altamente biocompatíveis <sup>24</sup>.

A impressão tridimensional está também a transformar paradigmas de manufaturas na área da saúde <sup>40</sup>. revolucionando a indústria de administração de distribuição de fármacos para medicamentos personalizados, tal como se pode ver na figura, em que uma substância ativa pode ser introduzida no corpo de um indivíduo através do uso de diversas técnicas para se obter um efeito biológico sistémico e tratar certas doenças <sup>41</sup>.

### **1.7. Fármacos**

Os fármacos ou princípios ativos de um medicamento são as substâncias que possuem efeito terapêutico ou farmacológico. Podem ser classificados de acordo com: 1) Ação terapêutica ou efeito fisiológico (como reage o corpo); 2) Mecanismo de ação farmacológico ou molecular (mudanças específicas que causam no corpo) e 3) Natureza ou fonte química (como são produzidos).

Das diferentes ações terapêuticas os anti-inflamatórios não esteroidais e os antibióticos estão entre os medicamentos mais amplamente utilizados em todo o mundo <sup>47</sup>.

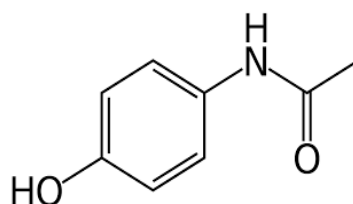
Os anti-inflamatórios não esteroidais são usados para diminuir a resposta inflamatória, dor das causas inflamatórias (efeito analgésico) e febre (efeito antipirético). Neste grupo de fármacos estão, entre outros, o ácido acetilsalicílico (AAS), o paracetamol (PCT) e o diclofenaco (DCF). A estrutura química destes compostos varia, no entanto, o seu principal mecanismo de ação é o mesmo: inibição reversível (à exceção do AAS) das isoformas da enzima cicloxigenase (COX-1 e COX-2).

Os antibióticos são substâncias químicas, naturais (produzidos por fungos ou bactérias) ou sintéticos com a capacidade de impedir a multiplicação ou eliminar bactérias, combatendo infeções bacterianas. No entanto, a sua definição é mais abrangente e nesta classe incluem-se os compostos utilizados para combater infeções causadas por um determinado microorganismo <sup>48</sup>. Apresentam atividades contra amplas variedades de

bactérias gram-positivas e gram-negativas e espécies atípicas, e aqui está incluída a tetraciclina (TTC) e também os derivados de naftoquinonas <sup>49</sup>.

### 1.7.1. Paracetamol

O paracetamol (PCT) ou também conhecido como acetaminofeno, é um analgésico e antipirético eficaz que é muito usado em todo o mundo e com efeitos semelhantes aos do ácido acetilsalicílico. Tem massa molar de 151,63 g/mol e a sua estrutura molecular (Figura 6) apresenta os grupos funcionais fenol e amida.



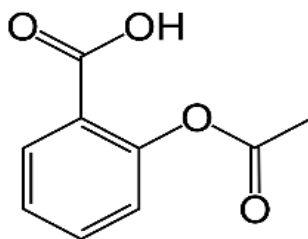
**Figura 6-** Estrutura molecular do paracetamol

É frequentemente indicado para aliviar dores leves a moderadas, essencialmente em caso de gripe ou resfriado, para o alívio de cabeça, dor de dentes, nas costas, osteoartrite, dores menstruais, pós-traumáticas, reações hiperérgicas da vacinação, dores musculares e articulares <sup>50</sup>. Também é considerado um medicamento básico para o tratamento da dor oncológica. Não está associado a quaisquer efeitos colaterais, por exemplo danos à mucosa gastrointestinal e rins, e por esta razão é seguro para administração a crianças, adultos, grávidas e idosos. Possui ainda a vantagem de ser totalmente livre de problemas de dependência, tolerância e abstinência. É ainda um bom substituto para pacientes que façam reação alérgica a produtos com ácido acetilsalicílico, que tenham possíveis problemas hemorrágicos, por exemplo.

O paracetamol, que está disponível em formulações injetáveis, orais e supositórios, é amplamente utilizado por pacientes com várias condições <sup>51,52</sup>.

### 1.7.2. Ácido acetilsalicílico

O ácido acetilsalicílico (AAS), também conhecido como aspirina, é um fármaco da família dos salicilatos, com massa molar de 180,16 g/mol. A sua estrutura molecular (Figura 7) apresenta as funções éster e ácido carboxílico.



**Figura 7** – Estrutura química do ácido acetilsalicílico

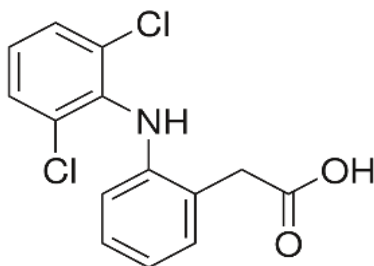
O AAS é conhecido pela sua vasta gama terapêutica e é usado, essencialmente, como analgésico, antipirético e anti-inflamatório <sup>53</sup>. Esta é recomendável no alívio de dores com intensidade leve a moderada, dores de cabeça, dentes, de garganta, menstruais, musculares, nas articulações, artrite, etc <sup>54</sup>. Pode ainda ser usada com inibidora da agregação plaquetária e existem também vários estudos associados a este fármaco na prevenção de diversos cancros <sup>53</sup>.

É rapidamente absorvido no estômago e no intestino. A biodisponibilidade oral dos comprimidos normais de ácido acetilsalicílico é de aproximadamente entre 40 a 50 % numa ampla gama de doses. Esta biodisponibilidade consideravelmente mais baixa é em relação a outros comprimidos com revestimento entérico e preparações microencapsuladas de libertação sustentada <sup>55</sup>.

No entanto, os principais efeitos colaterais posteriormente a uma administração oral incluem úlceras gastrointestinais, sangramento estomacal, entre outras. Este tipo de medicamento é geralmente ingerido frequentemente, o que muitas vezes leva ao abandono do paciente. A administração transdérmica oferece uma via alternativa que ignora o intestino e pode ser mais benéfica e segura especialmente a longo prazo <sup>53</sup>.

### **1.7.3. Diclofenac**

O diclofenac (DCF) é um anti-inflamatório não esteroide, que apresenta propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas. Tem massa molar de 296,15 g/mol e a sua estrutura molecular (Figura 8) apresenta os grupos funcionais amina e ácido carboxílico.



**Figura 8-** Estrutura molecular do diclofenaco de sódio

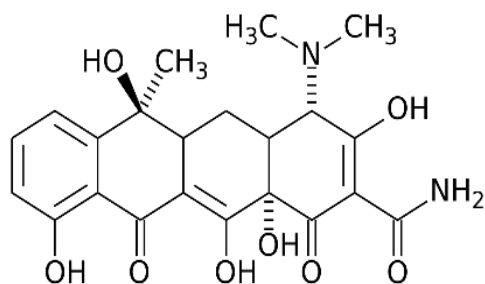
É indicado para o tratamento de dores agudas moderadas a leves e inflamações. Também utilizado no tratamento da dor associada à osteoartrite, , edemas pós-operatórios e pós-traumáticos, cólicas, dores articulares, nas costas, ombros, etc <sup>56</sup>.

Esta molécula, na sua forma ácida, é hidrofóbica com baixíssima solubilidade em água <sup>57</sup>.

Como a grande maioria dos fármacos, também sofre um metabolismo de primeira passagem, que é a quebra prematura do medicamento antes de atingir a circulação sistêmica, fazendo com que 50% não atinja a circulação sistêmica. É por isso administrado de duas a três vezes ao dia para que a concentração mínima efetiva do fármaco seja alcançada no plasma. Em consequência disto os efeitos adversos indesejados, tais como o desconforto gastrointestinal, dores no estômago e úlceras, podem ser agravados, o que pode fazer com que o doente não queira continuar o tratamento. Estes problemas podem ser resolvidos com o uso de transportadores de fármacos que podem fornecer uma administração controlada e sustentada de medicamentos, proporcionando uma melhor qualidade de vida aos pacientes <sup>56</sup>.

#### **1.7.4. Tetraciclina**

A tetraciclina (TTC) faz parte de um dos grupos de antibióticos com um amplo espectro de atividade e pouca toxicidade. Tem massa molar de 444,43 g/mol e a sua estrutura molecular apresenta diferentes grupos funcionais, amina, amida, álcool, enol e cetona de acordo com o esquematizado na Figura 9. Fazem parte de uma classe de antibióticos formados por hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, entre os quais três são obtidos naturalmente, através de fermentação de determinados fungos, e outros por processos semissintéticos <sup>58</sup>.



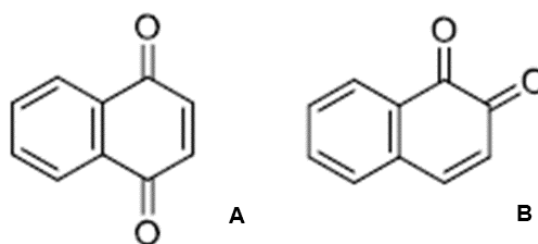
**Figura 9-** Estrutura molecular da tetraciclina

Tem uma vasta utilização no tratamento de uma grande variedade de infecções bacterianas, que pode ser usada tanto em terapia humana como em animais <sup>59</sup>.

A tetraciclina é um antibiótico que pode ser de origem natural ou semissintética. O seu uso surgiu graças às características favoráveis que apresenta, como por exemplo, a baixa toxicidade, amplo espectro de ação bastante eficiente e vasto contra diversos tipos de bactérias, agentes patogénicos e alguns protozoários parasitários, o seu preço reduzido, a sua simples administração, geralmente por via oral e os efeitos secundários que resultam de o uso serem poucos ou nulos <sup>60</sup>.

### 1.7.5. Naftoquinonas e seus derivados

Naftoquinonas são compostos orgânicos, da família das quinonas, constituídos na sua estrutura central pelo anel naftaleno, substituído por dois grupos carbonilo que podem ocupar as posições 1,4- ou 1,2- do anel (Figura 10) <sup>61</sup>.



**Figura 10 -** Estrutura molecular da **A)** 1,4-naftoquinona e **B)** 1,2-naftoquinona

As naftoquinonas e seus derivados podem ser isoladas de diferentes famílias de plantas ou sintetizadas através de diferentes protocolos químicos. No campo do desenvolvimento de novos compostos, para aplicações farmacêuticas, os derivados de naftoquinonas têm-se destacado por possuírem diversas atividades biológicas e medicinais relevantes. Devido às suas propriedades eletroquímicas, ácido-base e capacidade quelante

possuem diversas propriedades biológicas, incluindo anti-fúngicas<sup>12-14</sup>, anti-bacterianas<sup>12,14,15</sup>, anti-oxidante<sup>11,16</sup>, capacidade citotóxica<sup>17,18</sup>, anti-alérgica<sup>19,20</sup> e anti-viral<sup>21</sup> o que as torna estruturas privilegiadas na área da química medicinal<sup>62</sup>.

Das duas sub-famílias apresentadas, os derivados da 1,4-naftoquinona, pela sua maior incidência natural, têm sido, conseqüentemente, maioritariamente explorados e estudados, que os derivados da 1,2-naftoquinona. Estes últimos, no entanto, apresentam também uma ampla gama de propriedades terapêuticas como antitumoral, anti-inflamatória e em outras doenças como doenças virais e diabetes. que importa explorar através do design de novas estruturas derivatizadas do anel central<sup>63</sup>.

A incorporação de grupos substituintes azotados, tais como aminas aromáticas, alifáticas ou compostos heteroaromáticos, modifica a estrutura e as propriedades eletrônicas do núcleo da naftoquinona e conseqüentemente altera as suas propriedades, podendo conferir efeito melhorado para algumas aplicações medicinais e biológicas. Neste trabalho optou-se pelo estudo de derivados da 1,2-naftoquinona substituídos na posição 4 por aminas aromáticas *p*-substituídas<sup>64</sup>.

As aminas aromáticas são compostos orgânicos incluem na sua estrutura pelo menos um grupo amina ligado diretamente a um anel aromático. A sua estrutura química e a presença de grupos substituintes estão relacionadas com a atividade biológica destes compostos. Entre os derivados da anilina, destacam-se os que possuem grupos substituintes -NH<sub>2</sub>, -OH, -OCH<sub>3</sub>, -Cl, -CN e -NO<sub>2</sub>, pela porção de trabalhos concretizados relativamente às suas características<sup>65</sup>.

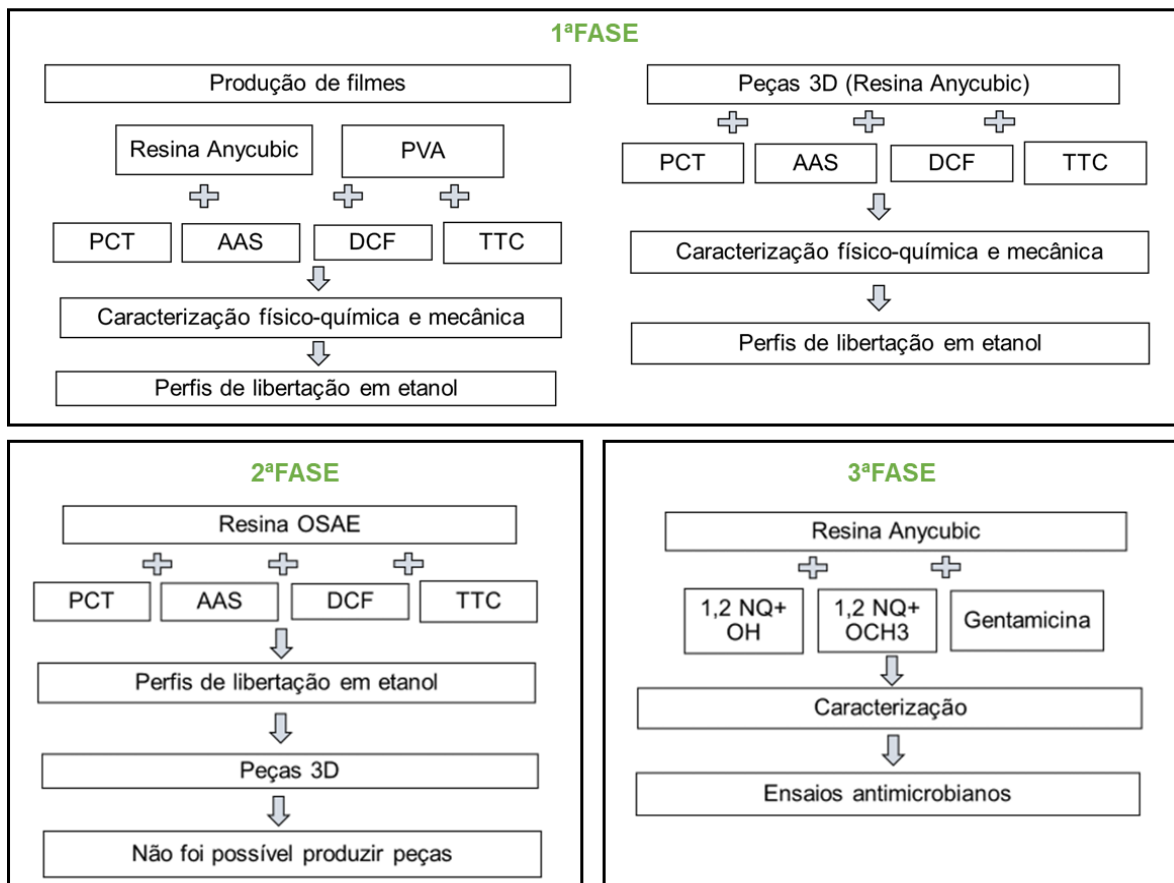
As ações terapêuticas das diferentes famílias de fármacos são claramente distintas. Apesar de existirem diferentes vias de administração, a mais utilizada é a de ingestão oral. Nos últimos anos, a indústria farmacêutica tem procurado novas formas de administração de fármacos, que possibilitem principalmente a absorção total do mesmo no organismo. Quando se encontram incorporados em matrizes a estrutura, tamanho e massa molecular dos princípios ativos são fatores que afetam a sua libertação. A escolha do ácido acetilsalicílico, do paracetamol, do diclofenaco e da tetraciclina, neste trabalho, deve-se ao facto de todos serem substâncias usadas como princípios ativos de algumas formas farmacêuticas comuns, e apresentarem diferenças de fórmula química, estrutura e massa molecular que permitem um estudo mais eficiente sobre os efeitos desses parâmetros na taxa de libertação. Os derivados de naftoquinonas foram selecionados com base em trabalhos já desenvolvidos no nosso grupo de investigação<sup>66</sup> e no interesse em avaliar a potencialidade destes compostos como antifúngicos.



## 2. Materiais e Métodos

O desenvolvimento do trabalho experimental compreendeu a realização de três fases de acordo com a Figura 11. A primeira fase teve como objetivo a caracterização e estudo de perfis liberação de compostos ativos nas matrizes poliméricas de resina Anycubic® e de PVA, onde foram incorporados os quatro fármacos comerciais designadamente, o PCT, o AAS o DCF e a TTC. Para isso foram produzidos filmes de resina Anycubic® e PVA e peças em 3D de resina Anycubic®.

A segunda fase do trabalho teve como objetivo verificar o comportamento de liberação dos fármacos referidos numa resina derivada do óleo de soja (OSAE) de estrutura semelhante à resina Anycubic. A utilização da resina OSAE para produção de peças 3D não se mostrou eficaz. Definidos os perfis de liberação avançou-se para a terceira fase, que teve como objetivo a produção de filmes de resina Anycubic® incorporados com compostos da família das naftoquinonas, com potenciais propriedades antimicrobianas.



**Figura 11** - Esquema do desenvolvimento do trabalho experimental por fases

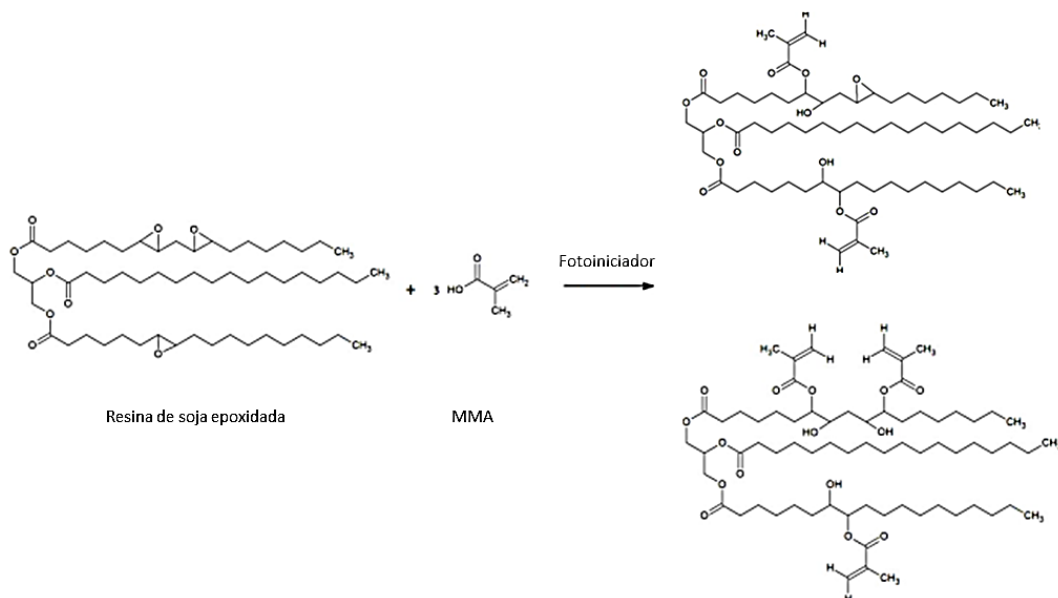
## 2.1. Reagentes

Para a preparação dos filmes e peças tridimensionais foi utilizada resina *Anycubic Plant-based UV Resin Clear*, adquirida à Anycubic®, que apresenta as características descritas na Tabela 2.

**Tabela 2** – Características da Resina Anycubic® <sup>26</sup>

Dureza	84D	Força de flexão	59-70 MPa
Viscosidade	150-300 Mpa	Força de Extensão	36-52MPa
Densidade solida	1,05-1,25 g/cm3	Deformação térmica	80°C
Comprimento de onda	355mn-410mn	Alongamento de rutura	11%-20%

Da consulta do site oficial da Anacubic®, sabe-se que a resina é de base de óleo de soja epoxidado e contém monómeros metil metacrilato (MMA) na sua composição e um fotoiniciador não identificado. A quantidade de fotoiniciador utilizado é geralmente inferior a 1% (m/m) pelo que a sua presença será difícil de detetar. Assim, admite-se que composição química seja essencialmente composta pela estrutura apresentada na Figura 12.



**Figura 12** – Possível estrutura química da resina Anycubic®

O PVA utilizado na produção dos filmes foi adquirido à PanReac AppliChem, com grau de pureza elevado e com um grau de hidrólise de 85-89%.

Os fármacos usados, nomeadamente o ácido acetilsalicílico, o paracetamol, o diclofenaco e a tetraciclina, foram adquiridos com elevado grau de pureza à Sigma-Aldrich e à Alfa Aesar, respetivamente.

Os derivados de naftoquinonas, foram sintetizados e disponibilizados pelo grupo de investigação e utilizados puros como fornecidos <sup>67</sup>.

## 2.2. Preparação dos filmes

### 2.2.1. Produção dos filmes e peças 3D de resina

Os filmes de resina Anycubic® foram produzidos, em placas de Petri, por cura com irradiação UV. A quantidade de resina necessária foi determinada para que a espessura de cada filme fosse de 1 mm. A quantidade de fármaco a incorporar foi calculada em relação à massa de resina, de forma a obter filmes com 1 e 10% (m/m). A quantidade de fármaco determinada foi dissolvida em 2 mL de etanol e adicionada à resina. A mistura foi homogeneizada, em agitador magnético, com agitação lenta e sem aquecimento, durante aproximadamente 5 minutos. Após homogeneização verteu-se a solução composta para uma placa de Petri, que foi colocada durante 10 minutos, debaixo de uma lâmpada UV de 405 nm, Figura 13-A.

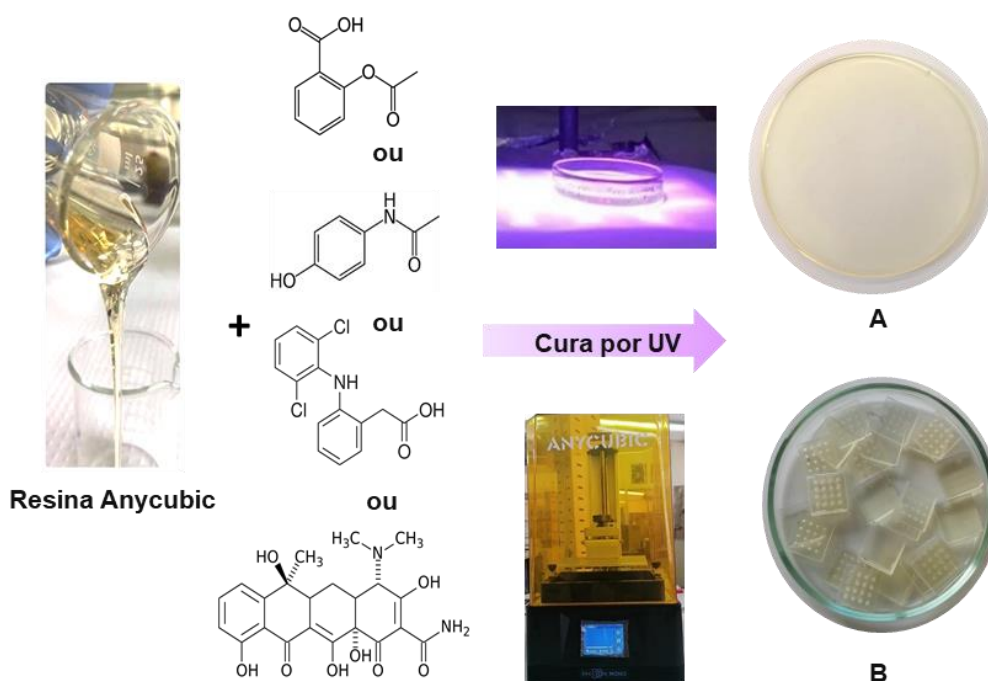
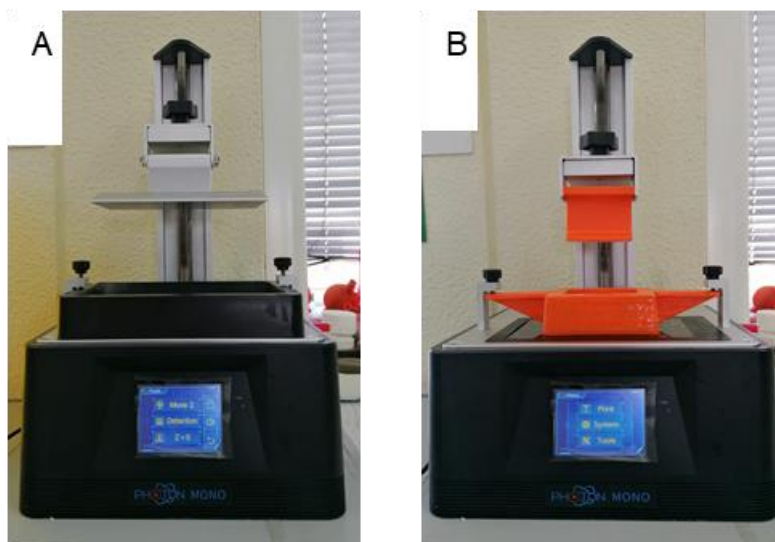


Figura 13 - Esquema da produção de A) filmes; B) Peças 3D

Para a impressão das peças 3D, os desenhos escolhidos foram criados no programa de software de CAD 3D SolidWorks, com um formato quadrangular para todos os modelos. Fabricaram-se peças com 0,2 e 0,5 mm de espessura com um comprimento de 1 mm lisas e com furos de 0,1 mm que se construíram com recurso à impressora 3D Anycubic Photon Mono, tal como se pode observar na Figura 13-B.

Na produção das peças foi necessário adaptar o sistema de impressão da impressora e projetar um novo tanque e um suporte de impressão de dimensões reduzidas. Esta alteração permitiu reduzir as quantidades de fármaco a usar, otimizando o processo de produção para peças dopadas com compostos mais caros. Na Figura pode observar-se o tanque e o suporte original da impressora 14-A e os que foram fabricados com recurso a outro tipo de impressão 3D, 14-B.



**Figura 14** – Impressora 3D; **A)** Tanque original; **B)** Tanque desenvolvido

### 2.2.2. Produção dos filmes de PVA

Na produção dos filmes de PVA foi usada a técnica de *casting*, ou técnica de evaporação do solvente, em placas de Petri de 10 cm. Inicialmente preparou-se uma solução de PVA, dissolvendo 1,25 g em 12,5 mL de água destilada. A mistura foi aquecida a 70 °C, durante 30 min, numa placa elétrica, com uma agitação moderada até adquirir consistência. Posteriormente acrescentou-se 0,5 mL de dispersante, glicerol, e 1 ou 10 % (m/m) dos diferentes fármacos, AAS, PCT, DCF, TTC, dissolvidos em 2 mL de etanol. De seguida verteu-se a solução para uma placa de Petri e colocou-se na estufa a 60 °C até à evaporação total do solvente (24h).

### 2.3. Ensaios de absorção de água

De forma a avaliar a capacidade de hidratação dos materiais produzidos, foram efetuados ensaios de absorção de água. Este estudo apresenta uma grande importância na compreensão da organização macromolecular dos filmes e na sua aplicação em ambientes aquosos, uma vez que a capacidade de absorção de água em algumas matrizes poliméricas em aplicações biomédicas tem apresentado grande interesse na comunidade científica, visto que a sua eventual biocompatibilidade pode estar em parte associada à capacidade de aumentar de volume quando imersas em meio aquoso. Em sistemas de libertação de composto tem também especial importância o comportamento de desidratação/hidratação.

Os ensaios nos filmes foram realizados em amostras de 1x2 cm, cortadas de diferentes zonas do filme total. As amostras foram pesadas inicialmente ( $M_i$ ) e colocadas em 20 mL de água destilada, à temperatura ambiente. Depois de 24 horas as amostras foram retiradas, cuidadosamente secas com papel absorvente e pesadas ( $M_f$ ).

Posteriormente calculou-se a percentagem de absorção de água dos filmes (o aumento da massa), através da expressão 1:

$$\text{Absorção de água \%} = \frac{(M_f - M_i)}{M_i} \times 100$$

### 2.4. Espectrofotometria Ultravioleta-Visível

Os espectros de Ultravioleta-Visível (UV-vis) foram traçados num espectrofotómetro da Agilent Technologies Carry 60 UV-Vis. Esta é uma técnica utilizada para medir a absorvância da luz nas zonas do ultravioleta e visível. Baseia-se na deteção da transição dos intra-atômicos ou moleculares entre orbitais, responsáveis pela absorção de radiação na zona do ultravioleta (200-400 nm), no visível (400-800 nm). O espectro de absorção de um material é obtido pela fração absorvida, em cada frequência, após a radiação ter passado pela amostra. A luz de comprimento de onda e intensidade conhecidos é direcionada para a amostra e sua intensidade final, após a passagem, é medida por um detetor. E então segundo a Lei de Lambert-Beer, a intensidade da absorção é proporcional à quantidade de amostra que absorve presente no material e aplicando esta lei é possível quantificar compostos aplicando esta técnica <sup>68</sup>.

## 2.5. Ensaios de liberação controlada

Para a realização dos ensaios de liberação do composto ativo, os filmes incorporados com os fármacos, PCT, AAS, DCF e TTC, foram cortados na forma de um quadrado com 10x10 mm, e foram colocados dentro de um balão, adicionados entre 20 mL a 200 mL de etanol e analisou-se por espectrofotometria UV-Vis, em intervalos de 30 em 30 min, de forma a determinar a percentagem de liberação dos compostos ativos.

## 2.6. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada

A espectroscopia de infravermelho, ou *Fourier Transform Infrared spectroscopy* (FTIR), é utilizada para verificar qualquer interação química entre duas matrizes poliméricas e entre matrizes poliméricas e nanopartículas na zona do infravermelho médio (4000-400  $\text{cm}^{-1}$ ).

A análise de FTIR-ATR, permitiu caracterizar molecularmente as amostras dos compostos, filmes e peças produzidas analisando possíveis alterações na estrutura molecular. Os espectros de FTIR-ATR foram obtidos num equipamento Shimadzu IRA Affinity-1S, em modo de refletância total atenuada (ATR). Foram adquiridos dois espectros de FTIR-ATR por cada amostra de filme e peça produzidos, obtidos entre 4000 e 650  $\text{cm}^{-1}$  com as seguintes condições de aquisição: resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 64 varrimentos.

## 2.7. Microscopia Ótica

As amostras foram analisadas num microscópio ótico Zeiss com lente ocular de 10x e objetivas de ampliação de 50x e 100x, para análise da dispersão dos fármacos nas amostras de resina e nas peças impressas em 3D. As imagens apresentadas foram adquiridas com o auxílio de um telemóvel.

## 2.8. Termogravimetria

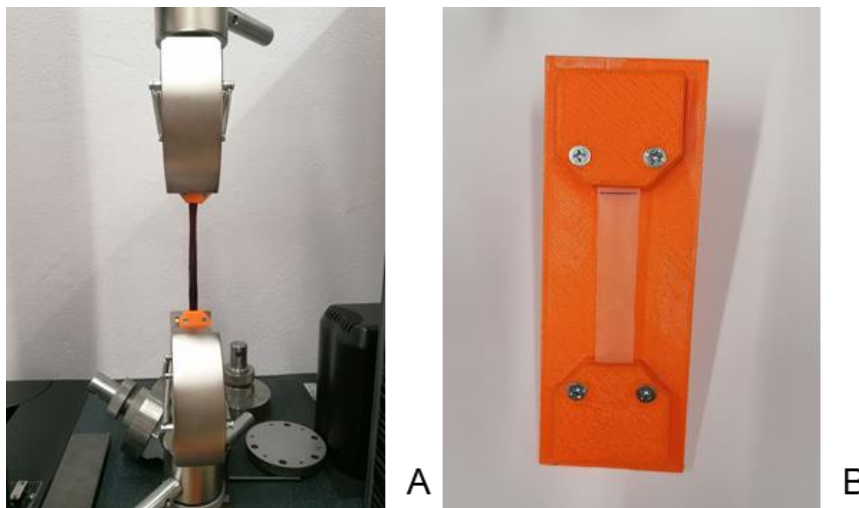
A caracterização da estabilidade térmica dos filmes e dos compostos foi analisada através de termogravimetria (TGA). Esta é uma técnica que acompanha a perda e ou ganho de massa em função do tempo ou da temperatura, devido à oxidação ou perda de voláteis.

Para a realização deste ensaio foi usado o equipamento de termogravimetria Perkin Elmer STA 6000. O ensaio realizou-se num intervalo de temperatura entre 30 °C e 800 °C e com uma velocidade de aquecimento de 10 °C/min, em atmosfera inerte. Com este ensaio foi possível determinar a temperatura de degradação e a massa residual a alta temperatura dos filmes ensaiados, tanto de resina como de PVA <sup>69</sup>.

## 2.9. Ensaios de tração

Os ensaios de tração permitem calcular vários parâmetros importantes para determinar a resistência e qualidade do material em estudo.

Para a realização dos ensaios de tração no equipamento Instron 68TM-10 foi necessária uma preparação prévia dos provetes respetivos, deixando-os de uma forma geométrica que estivesse de acordo com as normas. Uma vez que as amostras usadas são de materiais poliméricos foi usada a norma ASTM D882, de maneira a ter os resultados mais corretos possível, visto que esta estabelece o método padrão de ensaio para a determinação das propriedades de tração. Assim, os filmes foram cortados num formato retangular com 50 mm por 10 mm e ensaiados como se verifica na Figura 15-A. Uma vez que a máquina usada apresenta umas garras grandes para os filmes produzidos, foi necessário adaptar e desenhar peças em 3D para realizar o ensaio em melhores condições e para as amostras não “escorregarem”. A adaptação é possível ver na Figura 15-B



**Figura 15 – A)** Ensaio de tração com um filme de PVA; **B)** Adaptação das garras;

## 2.10. Ensaios microbiológicos

Foi usada a técnica de sobreposição *soft-agar* que tem sido amplamente utilizada em diversas áreas da microbiologia, com uma bactéria gram negativa, *Escherichia coli* ATCC25922 (*E.coli*) e uma gram positiva, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S.aureus*).

As culturas bacterianas foram cultivadas em meio líquido de Mueller-Hinton *broth* (MHB) a 37 °C em condições aeróbicas e sob agitação (180 rpm) durante a noite. Posteriormente fez-se um novo meio Mueller-Hinton *broth* misturado com 0,5% de agar técnico (solução de *soft-agar*) mantido a 60 °C, onde se diluíram as colónias de bactérias crescidas durante a noite, para uma concentração final de  $1 \times 10^6$  unidades formadoras de colónias (cfu/mL<sup>-1</sup>). Desta solução um volume de 6 mL com inóculo foi colocado numa placa de Petri de 9 cm por cima de 10 mL de Mueller-Hinton agar solidificado. Após os meios ficarem sólidos, as amostras dos filmes, previamente cortados em disco com um diâmetro de 0,9 cm, ou os compostos sólidos pesados com 2 mg, foram colocados no meio e deixaram-se a incubar durante 24 h a uma temperatura de 37 °C.

Analisou-se o aparecimento de zona de inibição do crescimento bacteriano, mediu-se o raio de inibição e fotografaram-se as placas<sup>70,71</sup>.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Produção e caracterização de filmes e peças 3D

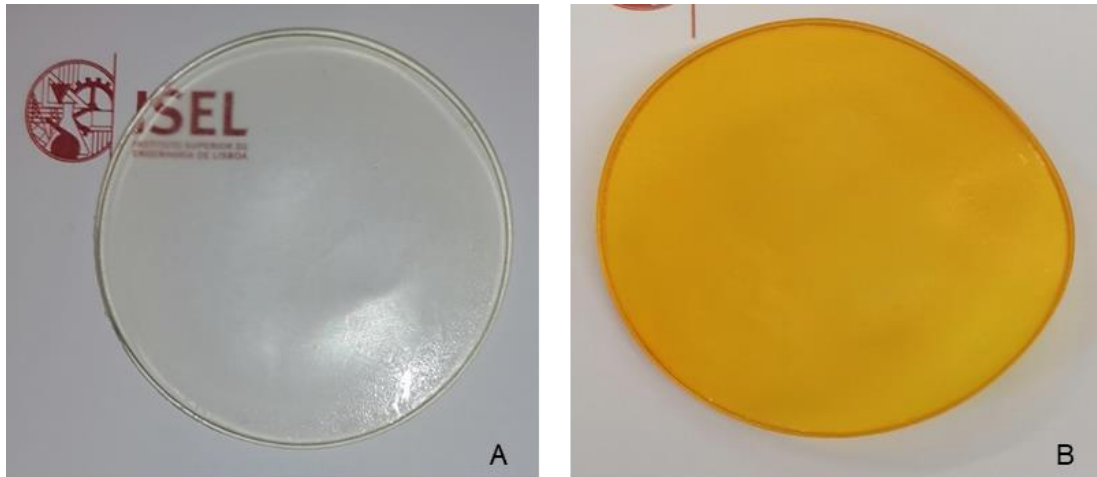
Este trabalho iniciou-se com a produção de filmes de resina Anycubic® e PVA, onde foram incorporados os quatro fármacos comerciais em estudo, designadamente o PCT, o AAS, o DCF e a TTC. Conforme referido, à exceção do filme de resina com TTC em todos os filmes produzidos foi utilizada uma quantidade de 10% de fármaco (m/m) relativamente à quantidade de polímero, referenciados de acordo com os códigos definidos na Tabela 3.

**Tabela 3** - Filmes de resina Anycubic® e de PVA produzidos

Filmes					
	Composto ativo	Referência		Compostos ativo	Referência
	Resina Anycubic®	-		R-C	PVA
10% de paracetamol		R-PCT	10% de paracetamol	PVA-PCT	
10% de ácido acetilsalicílico		R-AAS	10% de ácido acetilsalicílico	PVA-AAS	
10% de diclofenaco		R-DCF	10% de diclofenaco	PVA-DCF	
1% de tetraciclina		R-TTC	10% de tetraciclina	PVA-TTC	

##### 3.1.1. Filmes de resina Anycubic®

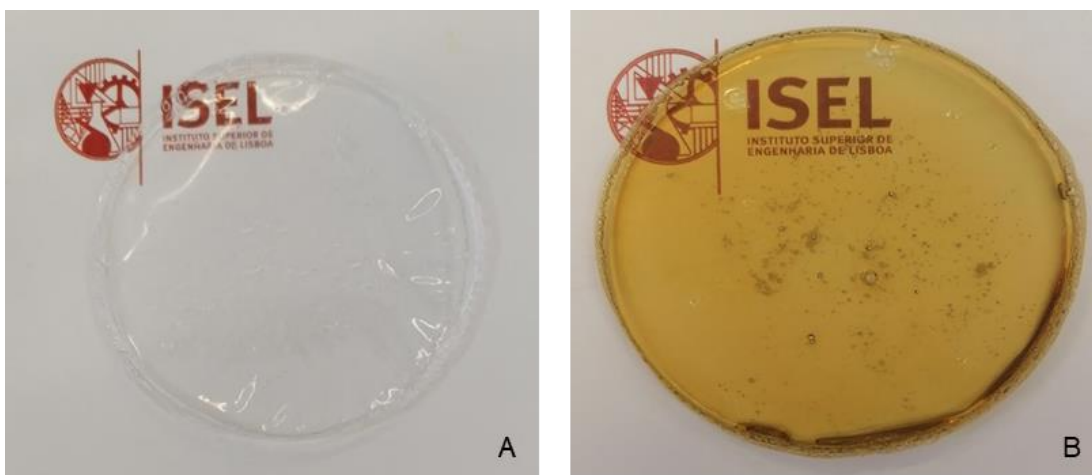
Os filmes de resina anybubic®, controlo e dopados com os diferentes compostos, foram produzidos como descrito no capítulo 2 Materiais e Métodos. O filme R-C, constituído por resina, após o processo de cura, resultou numa película de aproximadamente 1 mm de espessura, praticamente transparente, denso e com pouca maleabilidade/flexibilidade, como pode ser observado na Figura 16A. A incorporação de AAS, PCT e DCF não alteraram o aspeto visual, resultando também em filmes dopados transparentes, de aspeto semelhante ao filme controlo. A diferença de cor verificou-se no filme R-TTC, que após o processo de cura, resultou numa película amarela, Figura 16B, consequência da cor amarela da tetraciclina sólida.



**Figura 16** - Filmes de resina Anycubic®; **A)** R-C; **B)** R-TTC.

### 3.1.2. Filmes de PVA

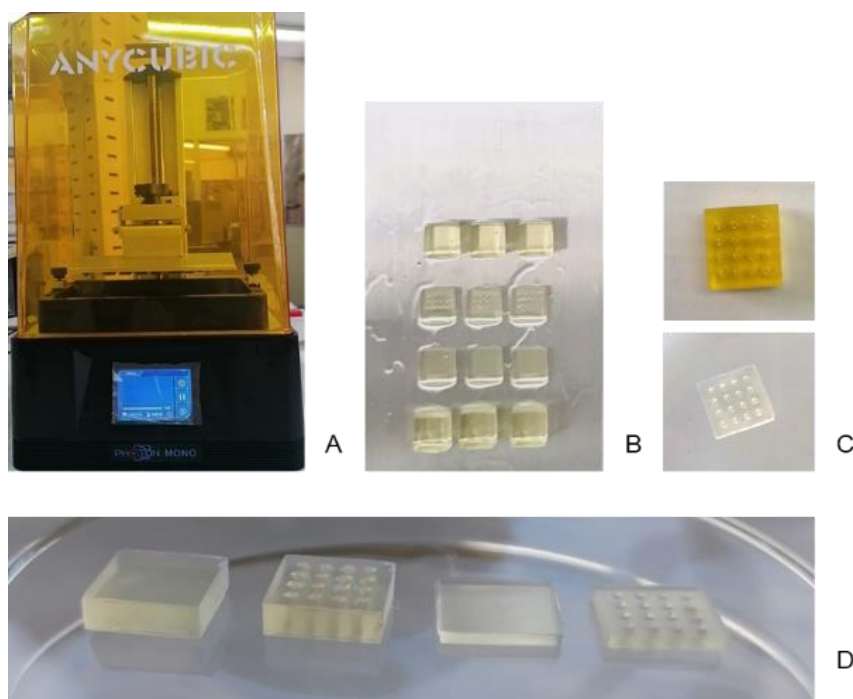
Os filmes de PVA cujas imagens se apresentam na Figura 17, foram produzidos de acordo com o processo detalhado no capítulo 2 Materiais e Métodos. O filme controlo, apresentou-se transparente e com maior maleabilidade/flexibilidade que o filme controlo de resina. Também neste caso, os filmes incorporados com AAS, PCT, e DCF formaram películas transparentes e o filme R-TTC resultou numa película amarelada. Visualmente os filmes revelaram-se totalmente transparentes, como é possível observar na Figura 17A, e apenas o filme R-TTC se denotou totalmente amarelado, Figura 17B, consequência da cor amarela da TTC.



**Figura 17-** Filmes de PVA; **A)** PVA-C; **B)** PVA-TTC.

### 3.1.3. Peças em 3D

As peças em 3D foram impressas através da técnica DLP, na impressora Anycubic® Mono apresentada na Figura 18A. Estas apresentaram uma cor semelhante aos filmes, um amarelado claro quase transparente, com exceção das incorporadas com tetraciclina que apresentam uma cor totalmente amarelada, como se verifica na Figura 18C. As peças foram produzidas com 4 modelos quadrados diferentes, com as dimensões de espessuras de 0,5 mm para as mais espessas e 0,2 mm para as mais finas e com um comprimento de 1mm para todos os casos, foram ainda criados furos com 0,1 mm, como é possível observar na Figura 18D.



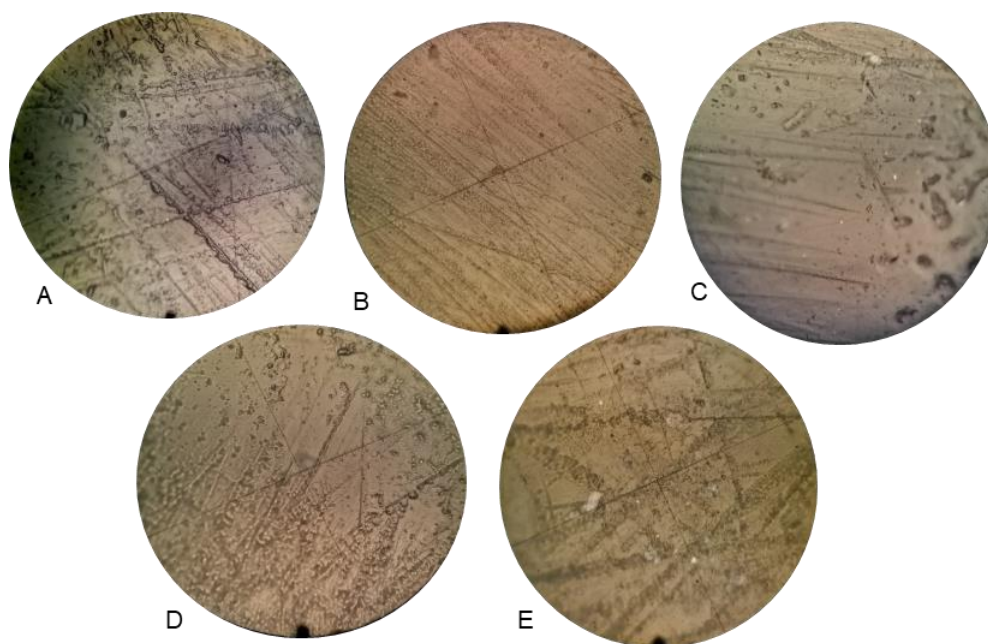
**Figura 18 – A)** Impressora Anycubic®; **B)** Peças impressas no dispositivo de microespelho digital; **C)** Resultado da impressão; **D)** Modelos impressos.

## 3.2. Análise morfológica por microscopia ótica

Conforme referido, neste trabalho foram produzidos filmes de resina Anycubic® e PVA, simples e incorporados com os diferentes fármacos em estudo, designadamente o AAS, o PCT, o DCF e a TTC. De acordo com o esperado, consequência das diferenças do material de base, resina Anycubic® e PVA, observaram-se diferenças morfológicas, que se atribuem essencialmente às diferenças de densidade dos filmes.

### 3.2.1. Filmes de resina Anycubic®

Os filmes de resina controlo e dopados analisados por microscopia ótica, não apresentam alterações significativas entre eles, conforme pode ser observado na Figura 19, todos são homogêneos à escala macroscópica ótica.



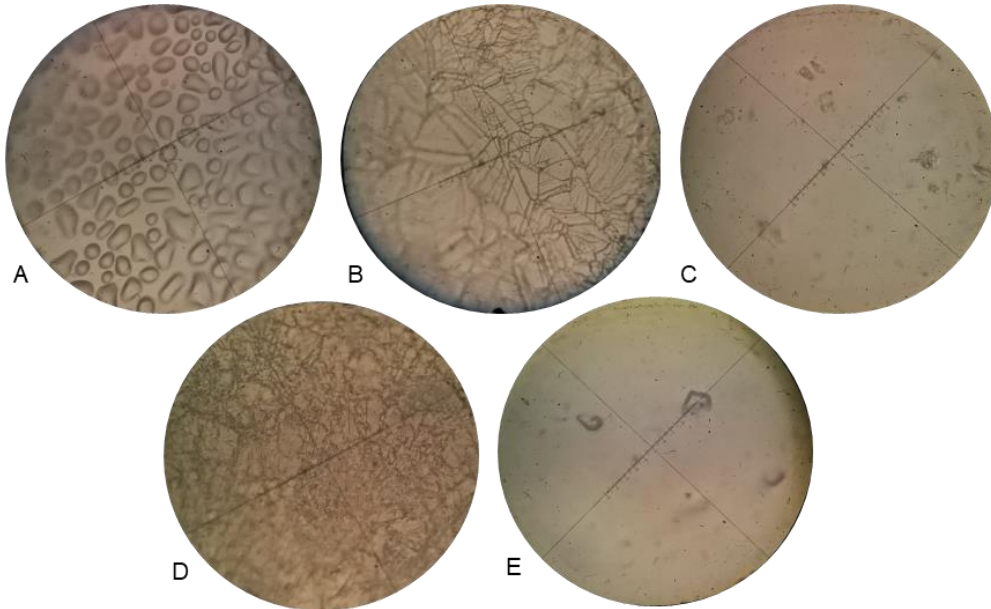
**Figura 19-** Imagens microscópicas da resina com uma ampliação de 100x; **A)** R-C; **B)** R-PCT com uma ampliação de 50x; **C)** R-AAS; **D)** R-DCF; **E)** R-TTC.

Todos os filmes se apresentam homogêneos à escala macroscópica e observam-se alguns defeitos e rugosidade (Figura 19), que não são visíveis à vista desarmada. Verificou-se também que a incorporação dos compostos ativos não modificou as características visuais, indicando boa compatibilidade entre a resina e os fármacos incorporados. Para uma melhor e eficaz avaliação morfológica da estrutura superficial e aspetos topográficos dos diferentes filmes pretende-se que as amostras possam ser investigadas futuramente à escala nanométrica num microscópio eletrónico de varrimento.

### 3.2.1. Filmes de PVA

No caso dos filmes de PVA, cujas imagens se apresentam na Figura 20, o filme controlo, sem qualquer incorporação, apresenta-se com “bolhas” que não são visíveis à vista desarmada (Figura 20A). Com a incorporação dos fármacos existe alteração

morfológica do aspeto dos filmes, relativamente ao filme controlo onde os vazios identificados deixam de ser observados.

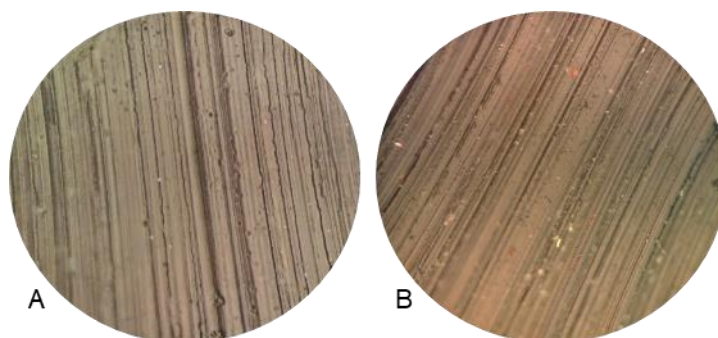


**Figura 20** – Imagens microscópicas de PVA com uma ampliação de 50x; **A)** PVA-C; **B)** PVA-PCT; **C)** PVA-AAS; **D)** PVA-DCF; **E)** PVA-TTC.

Verifica-se ainda que existe uma segmentação nos filmes PVA-AAS e PVA-TTC (Figura 20B e 20D) que não se verifica nos filmes PVA-PCT e PVA-DCF (Figura 20C e 20E), totalmente uniformes. Este facto sugere que as interações entre os diferentes compostos com o PVA são diferentes. Assim, admite-se que poderá existir uma maior compatibilidade entre o PVA e o AAS e a TTC, relativamente ao PCT e DCF. Para uma melhor e eficaz avaliação morfológica da estrutura superficial e aspetos topográficos dos diferentes filmes pretende-se que as amostras possam ser investigadas futuramente à escala nanométrica num microscópio eletrónico de varrimento

### 3.2.1. Peças 3D

As peças impressas em 3D, cujas imagens da morfologia se apresentam na Figura 21, são bastante semelhantes, para a peça controlo e peças dopadas com os fármacos, de acordo com o observado para os filmes. A esta escala, observa-se um padrão uniforme, riscado, permitindo verificar que a incorporação dos fármacos não modifica o aspeto visual das peças de resina.



**Figura 21** - Imagens microscópicas das peças impressas em 3D com ampliação de 50x; **A)** Resina menos espessa; **B)** Resina mais espessa.

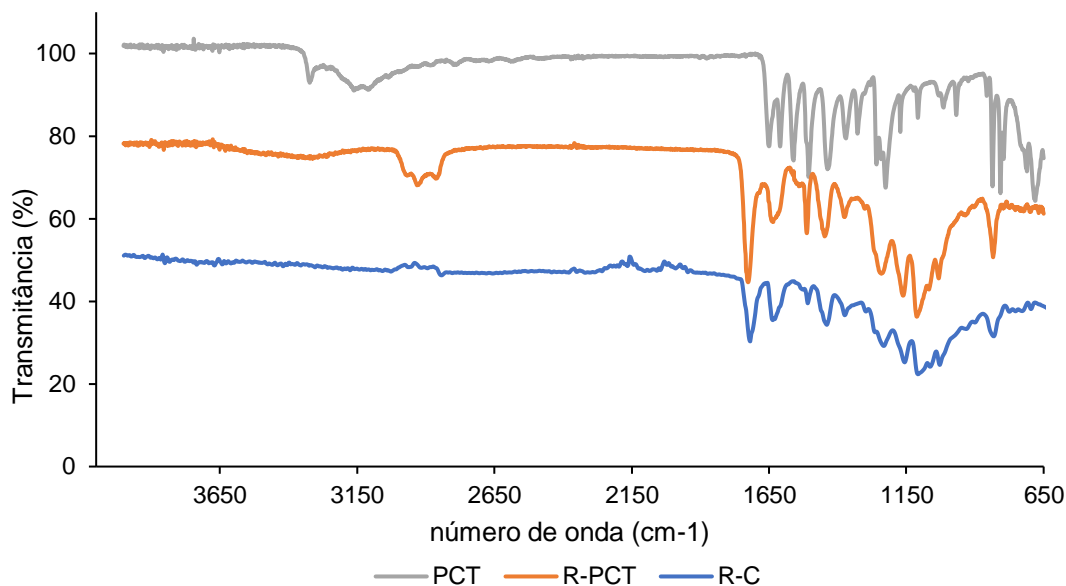
Para uma melhor avaliação morfológica todas as peças serão investigadas futuramente por microscopia eletrônica de varredura.

### **3.3. Análise de FTIR-ATR**

A técnica analítica FTIR-ATR, foi utilizada para investigar eventuais alterações macromoleculares e possíveis interações estabelecidas entre os polímeros base e os diferentes compostos ativos estudados. A sua caracterização centrou-se na análise dos compostos isolados, filmes controlo e observação de alterações significativas na estrutura química dos filmes dopados.

#### **3.3.1. Filmes de resina Anycubic®**

De uma maneira geral, os espectros dos quatro filmes de resina Anycubic dopados com os diferentes fármacos selecionados, não mostraram diferenças significativas relativamente ao espectro da resina controlo. A título de exemplo apresenta-se na Figura 22 a comparação feita para os espectros de filme R-C, filme R-PCT e o composto paracetamol.



**Figura 22** – Espectros de FTIR-ATR do paracetamol, filme R-PCT e filme R-C.

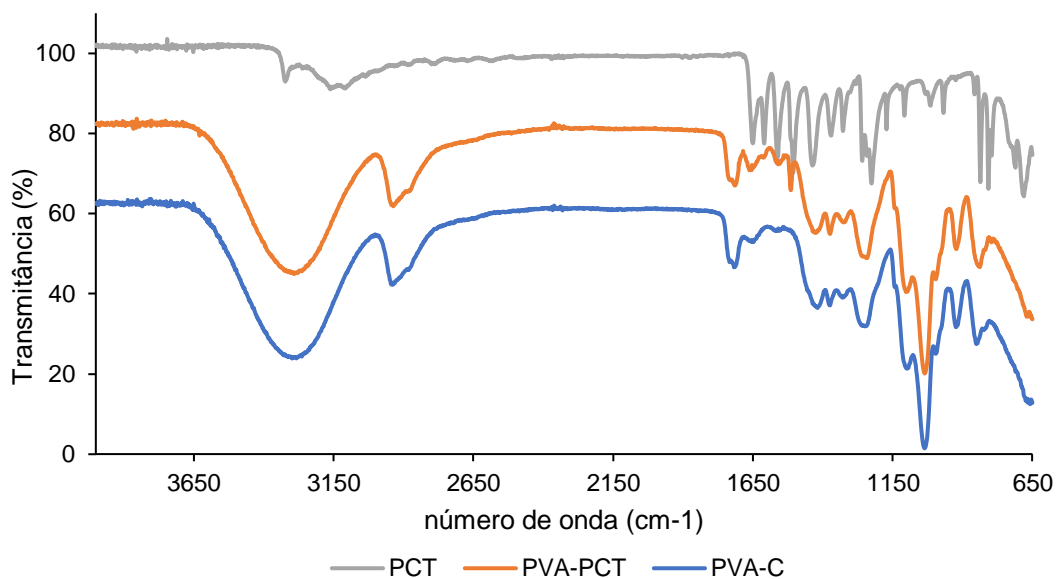
No espectro de FTIR-ATR do filme R-C (Figura 22) é possível confirmar a presença dos grupos éster C=O e C-O-C pela presença das bandas de alongamento a  $1720\text{ cm}^{-1}$  e  $1265\text{ cm}^{-1}$ , respetivamente. A banda a  $831\text{ cm}^{-1}$  confirma a presença de grupos epóxi, confirmado a estrutura sugerida na Figura 12 e mostrando que nem todos os anéis epóxi foram quebrados no processo de cura. A banda a  $1628\text{ cm}^{-1}$  confirma a presença dos grupos acrilato. A presença do PCT no filme de resina anycubic® (R-PCT) é detetada pela presença da banda a  $1514\text{ cm}^{-1}$  causada pela vibração de flexão da ligação N-H presente na estrutura do paracetamol.

Para os filmes de resina incorporados com AAS, DCF e TTC é possível detetar a presença dos fármacos de forma semelhante, pela presença das bandas características de cada uma das substâncias ativas.

Todos os restantes espectros encontram-se apresentados em Anexo 1.

### 3.3.1. Filmes de PVA

Da análise comparativa dos espectros obtidos para os filmes de PVA, verifica-se que a incorporação dos fármacos não influencia significativamente o espectro dos filmes dopados, relativamente ao espectro de FTIR-ATR do filme de PVA-C. Na Figura 23, apresenta-se como exemplo a comparação dos espectros obtidos para o paracetamol, filme de PVA-PCT e filme de PVA-C.



**Figura 23** – Espectros de FTIR-ATR do paracetamol, filme PVA-PCT e filme PVA-C.

O espectro de FTIR-ATR do álcool polivinílico apresenta o perfil característico com a sua estrutura. É possível identificar as bandas a 3282 cm<sup>-1</sup> (estiramento axial dos grupos OH), a 2933 cm<sup>-1</sup> (estiramento assimétrico de grupos CH<sub>2</sub>), 2871 cm<sup>-1</sup> (alongamento simétrico dos grupos CH<sub>2</sub>) e 1030 cm<sup>-1</sup> (estiramento do grupo C-O). A presença do fármaco, apesar de difícil de perceber devido à sua baixa concentração relativamente ao polímero, é detetada pela presença da banda a 1514 cm<sup>-1</sup> causada pela vibração de flexão da ligação N-H presente na estrutura do paracetamol (Figura 7), que não surge no espectro do filme de PVA controlo.

Para os filmes de PVA incorporados com AAS, DCF e TTC é possível detetar a presença dos fármacos de forma semelhante, pela presença das bandas características de cada uma das substâncias ativas.

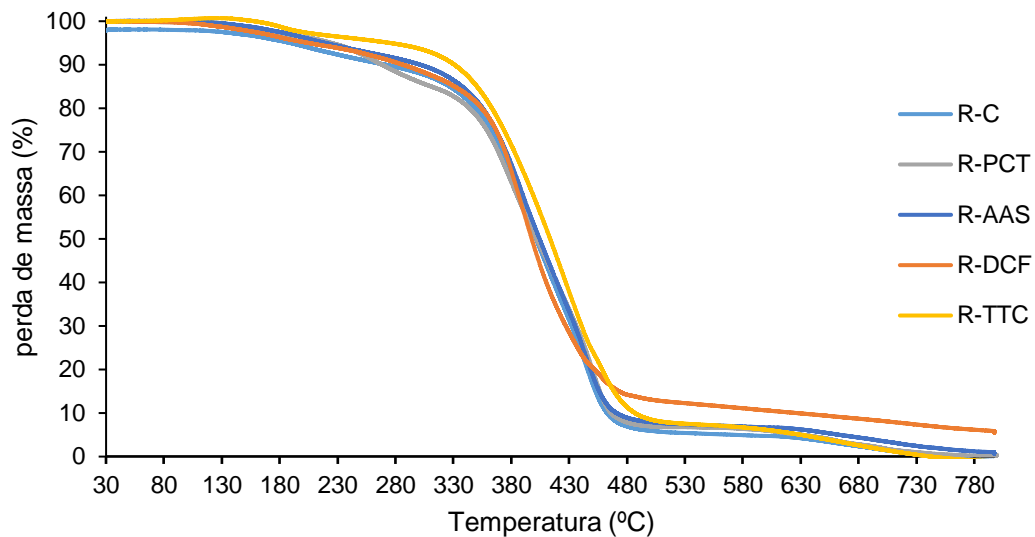
Todos os restantes espectros encontram-se apresentados em Anexo 1.

### 3.4. Análise Termogravimétrica

As propriedades térmicas dos filmes produzidos foram investigadas por análise termogravimétrica.

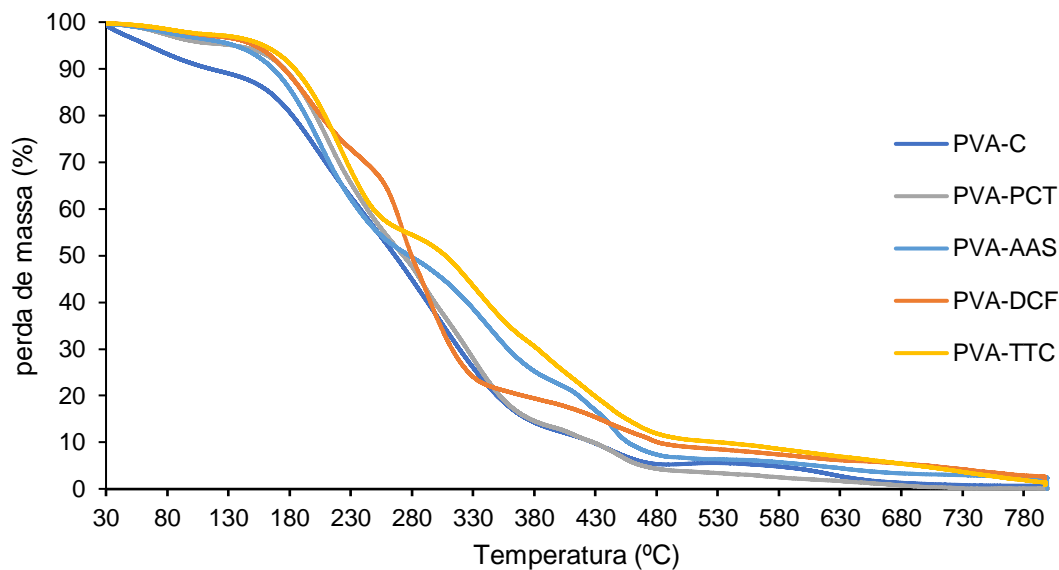
Para os filmes de resina as curvas de TGA (Figura 24) apresentam um perfil muito semelhante para o filme controlo e os filmes dopados.

A análise dos resultados permite verificar que existe uma ligeira perda mássica (5%) até aos 250 °C, que se atribui à decomposição de substâncias voláteis e expansão térmica. No intervalo entre 250 - 500 °C observa-se a perda de 85 % da massa total, e os restantes 10 % residuais são perdidos acima dos 500 °C. A estabilidade térmica tem relação com a densidade de reticulação e estrutura química da rede, não se tendo observado diferenças significativas nos filmes dopados relativamente ao filme de resina controlo.



**Figura 24** – Termogramas dos filmes de resina Anycubic® controlo e incorporados com os fármacos PCT, AAS, DCF e TTC.

As curvas da análise termogravimétrica dos filmes de PVA-C e dopados com os diferentes fármacos em estudo apresentam-se na Figura 25.



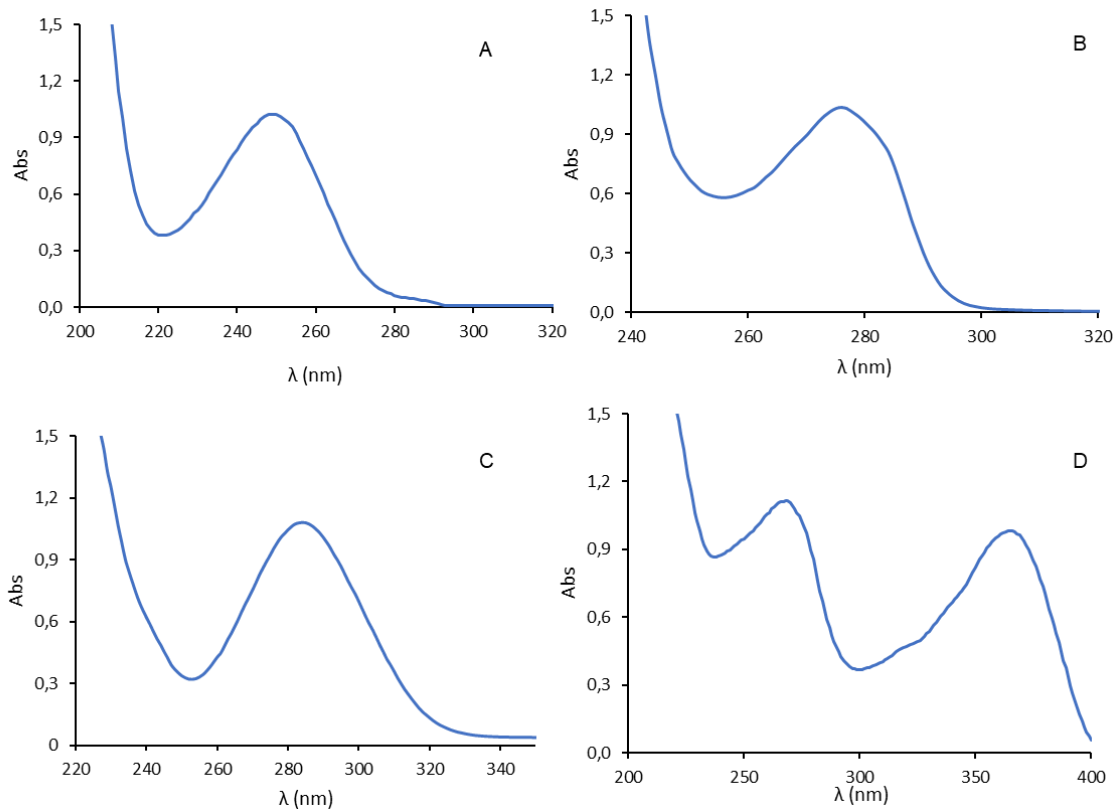
**Figura 25** – Termogramas dos filmes de PVA controlo e dopados com os fármacos PCT, AAS, DCF e TTC.

A análise das curvas apresentadas na Figura 25 mostra que, para o caso dos filmes de PVA existem ligeiras diferenças para os filmes dopados com os fármacos relativamente ao filme de PVA controlo. Ainda assim, as principais perdas de massa ocorrem em intervalos semelhantes. Observa-se uma ligeira perda de massa, mais evidente no filme de PVA controlo, até aos 150 °C, atribuída à desidratação do material. No intervalo entre 150 – 500 °C, observa-se a maior perda mássica e a decomposição térmica ocorre em diferentes intervalos de tempo para os diferentes filmes, com uma primeira etapa até aos 330 °C e uma segunda etapa dos 330 – 500 °C. Na primeira admite-se que a perda esteja associada à decomposição do poliéster e a segunda etapa devido a degradação de macro radicais de polieno da estrutura dorsal do PVA. Por fim observa-se a perda final que ocorre até aos 800 °C, consequência das reações de pirólise. As diferenças observadas sugerem que a estrutura química de rede é modificada para os diferentes fármacos em estudo.

### 3.5. Ensaios de Libertação Controlada

Para iniciar os estudos de libertação dos fármacos começou-se por traçar os espectros de UV-vis de cada um dos compostos PCT, AAS, DCF e TTC, de forma a a que os ensaios de libertação fossem realizados ao  $\lambda_{\text{máx}}$  para cada um. Conforme se pode observar na Figura 26 o PCT, o AAS e o DCF apresentam um perfil semelhante, com um único máximo a 250 nm, 276 nm, 284 nm, respetivamente. O espectro de UV-vis da TTC,

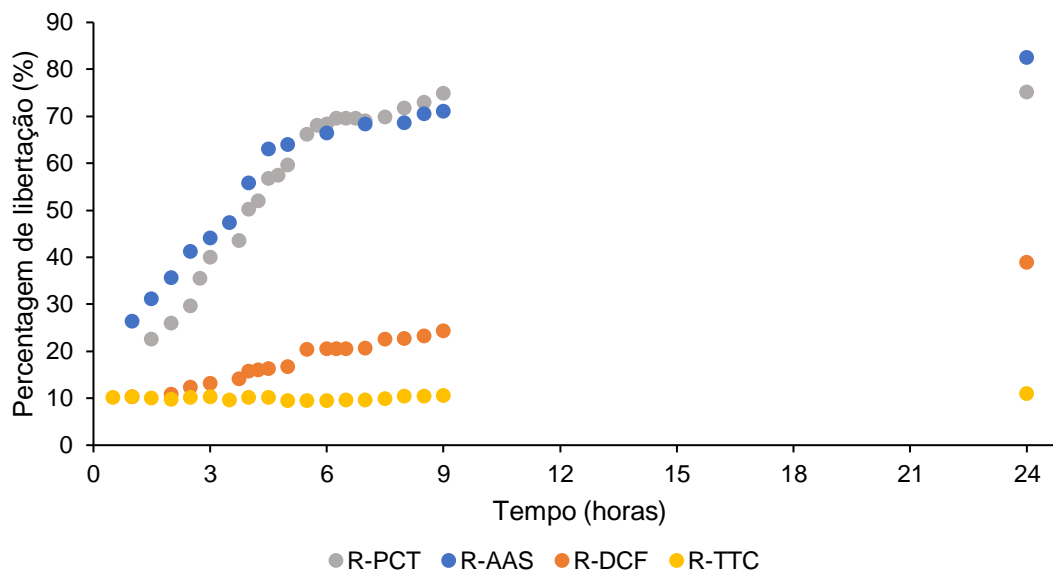
apresentou dois máximos a 269 nm e 364 nm, tendo-se selecionado o 364 nm para os estudos realizados.



**Figura 26** – Espectros de UV-vis (em etanol) dos fármacos usados no estudo; **A)** Paracetamol ( $1,32 \times 10^{-4}$  M); **B)** Ácido acetilsalicílico ( $2,22 \times 10^{-3}$  M); **C)** Diclofenaco ( $9,00 \times 10^{-5}$  M); **D)** Tetraciclina ( $2,25 \times 10^{-5}$  M).

### 3.5.1. Filmes de resina Anycubic®

Os perfis de libertação obtidos, no decorrer de 24 horas, para os filmes de resina Anycubic® incorporados com os diferentes fármacos estão representados na Figura 27.



**Figura 27-** Perfis de liberação, em etanol, dos fármacos incorporados nos filmes de resina Anycubic®, em função do tempo.

A análise dos resultados permite verificar que a liberação dos quatro fármacos em estudo, incorporados nos filmes de resina Anycubic®, segue dois perfis gerais. O comportamento de liberação, em etanol, para o AAS e o PCT é semelhante e mais eficiente do que o observado para o DCF e para a TTC.

Para o filme de resina incorporado com PCT, verificou-se uma liberação total de 84% ao fim de 24 h de ensaio, mantendo-se constante nas 48 h seguintes. No entanto, 70% do fármaco é libertado nas primeiras 5 h, o que demonstra que é nesse período que decorre a liberação da maioria deste composto.

À semelhança do anterior, também o filme de resina incorporado com AAS, liberta um total de 83% ao fim de 24 h de ensaio, mantendo-se constante nas 48 h seguintes. Verifica-se que 63% do fármaco é libertado nas primeiras 5 h, o que demonstra que é neste período que decorre a liberação da maior parte deste composto.

Para o filme de resina incorporado com DCF observa-se que nas primeiras 5 h apenas 20% do fármaco é libertado. Neste caso o perfil de liberação é mais gradual atingindo 40% ao final de 24 h e subindo progressivamente para 53% no decorrer das 48 h seguintes. Este resultado confirma uma cinética de liberação diferente da observada para os filmes R-PCT e R-AAS.

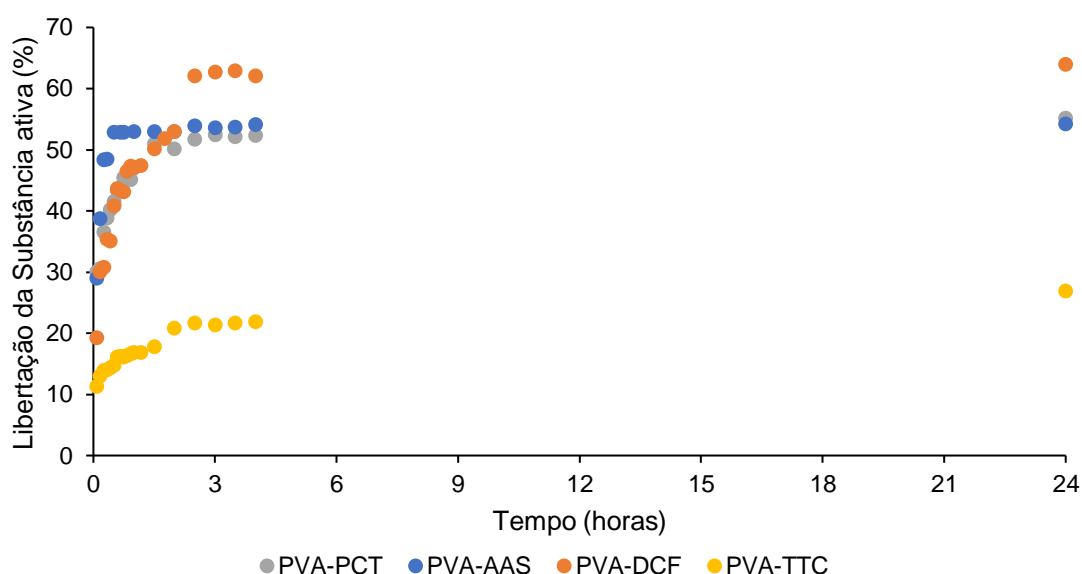
No filme de resina incorporado com TTC verifica-se que o perfil de liberação é praticamente constante, uma vez que os 10% observados na primeira hora se mantêm inalterados no decorrer de 24 h. A monitorização do ensaio até às 72 h demonstrou que se

libertou 35% do fármaco, revelando que também à semelhança do DCF, também neste caso, a libertação é bastante gradual.

De acordo com o esperado, os resultados demonstraram que quanto maior a massa molar do fármaco, menor será sua libertação.

### 3.5.1. Filmes de PVA

Os perfis de libertação obtidos, no decorrer de 24 horas, para os filmes de PVA incorporados com os diferentes fármacos estão representados na Figura 28.



**Figura 28** - Perfis de libertação, em etanol, dos fármacos incorporados nos filmes de PVA em função do tempo.

Observando os resultados obtidos para os filmes de PVA, é possível verificar que a libertação dos quatro fármacos em estudo, incorporados em filmes de PVA, apresenta diferenças relativamente ao observado para os filmes de resina. Neste caso, o comportamento de libertação, em etanol, para a libertação de PCT, AAS e DCF é semelhante e mais eficiente do que o observado para a libertação da TTC.

No filme de PVA incorporado com PCT, verificou-se uma libertação máxima de 55% ao fim de 24 h de ensaio, mantendo-se constante nas 48 h seguintes. Todavia, 50% do fármaco é libertado na primeira hora, o que demonstra que é nesse período que decorre a libertação da maior parte do composto libertado.

No filme de PVA incorporado com AAS, verifica-se pelo perfil de libertação que 52% do fármaco é libertado na primeira meia hora, mantendo-se praticamente constante no decorrer

do ensaio, aumentando apenas para 54% no final de 24 h e assim se mantendo durante as 48 h seguintes.

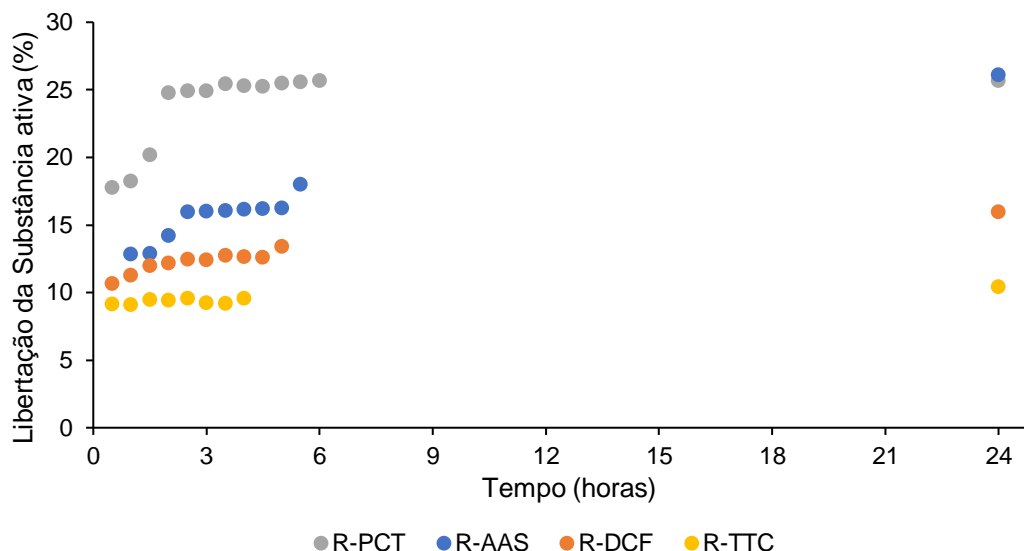
O filme de PVA incorporado com DCF, ao contrário do que acontece no filme de resina, revelou um perfil de libertação com um máximo de 63% ao final de 24 h, mantendo-se constante nas 48 h seguintes. Curiosamente este composto revelou uma libertação superior aos dois compostos anteriores. Verifica-se que na primeira hora 47% do fármaco é libertado, o que demonstra que é nesse período que decorre a libertação da maioria do composto libertado em 48 h.

No filme de PVA incorporado com TTC nota-se um perfil de libertação mais lento, em que nas primeiras 2 h se liberta 20% do fármaco, subindo gradualmente no decorrer do ensaio para 26% ao final de 24 h e assim se mantendo nas seguintes 48 h. Este composto demonstra uma cinética de libertação diferente da observada nos restantes, ainda que semelhante à encontrada quando incorporado em resina Anycubic®.

Neste caso também se verifica que o composto com maior massa molar é o que apresenta menor percentagem de libertação. No entanto, os resultados obtidos para a libertação do PCT, AAS e DCF não seguem a tendência observada com os filmes de resina. Neste caso o DCF é o composto com maior percentagem de libertação, sugerindo que poderá apresentar uma menor interação com o PVA, permitindo a sua maior libertação.

### **3.5.2. Peças 3D**

No caso das peças imprimidas em 3D, incorporadas com os quatro fármacos, de uma maneira geral os perfis de libertação não apresentam diferenças significativas entre os diferentes desenhos produzidos. A título de exemplo apresenta-se na Figura 29 os perfis de libertação obtidos, no decorrer de 24 horas, para as peças 3D, de resina Anycubic® lisas (Sem furos), produzidas com maior espessura e incorporados com os diferentes fármacos.



**Figura 29-** Perfis de libertação, em etanol, dos fármacos incorporados nas peças 3D de resina Anycubic® lisas de maior espessura produzidas, em função do tempo.

Em peças incorporadas com PCT, verificou-se uma libertação máxima de 26% ao fim de 24 h de ensaio que aumenta para 72%, nas 48 h seguintes. No entanto, 40% do fármaco é libertado nas primeiras 6 h, o que demonstra que é nesse período que decorre a libertação da maioria do composto.

À semelhança do anterior, também a peça incorporada com AAS, liberta um total de 26% ao fim de 24 h de ensaio, aumentando para um máximo de 77%, nas 48 h seguintes. Verifica-se que 16% do fármaco é libertado nas primeiras 2 h e meia, o que demonstra que nesse período decorre a libertação de metade do fármaco libertado em 24 h.

Para as peças incorporadas com DCF verifica-se que o perfil de libertação é praticamente constante, uma vez que 11% do fármaco é libertado na primeira hora, subindo gradualmente até aos 16% no decorrer de 24 h, mantendo-se constante nas seguintes 48 h.

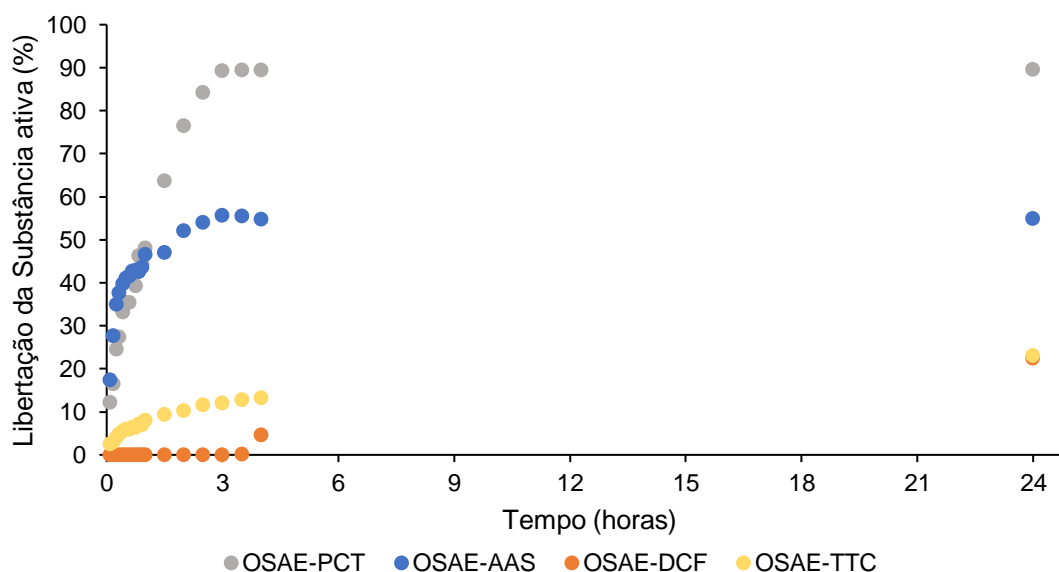
Em peças incorporadas com TTC verifica-se que o perfil de libertação é praticamente constante, uma vez que os 10% observados na primeira hora se mantêm inalterados no decorrer de 24 h, mantendo-se constante nas seguintes 48 h. Este comportamento revela-se semelhante ao do DCF, em que também neste caso, a libertação é bastante gradual.

Deste modo ao compararmos ambos os métodos usados verificamos que as percentagens de libertação diminuem quando os fármacos em estudo são incorporados em peças 3D. Admite-se que este facto esteja relacionado com a espessura das peças, que quanto mais espessas mais dificultam a libertação dos compostos ativos.

Os restantes perfis de libertação registados para as diferentes peças produzidas por impressão 3D encontram-se apresentados no Anexo 2 e os resultados globais apresentados na Tabela 4 e discutidos de seguida.

### 3.5.3. Filmes de Resina OSAE

Os perfis de libertação obtidos, no decorrer de 24 horas, para os filmes de resina OSAE incorporados com os diferentes fármacos estão representados na Figura 30.



**Figura 30** –Perfis de libertação, em etanol, dos fármacos incorporados nos filmes de resina OSAE, em função do tempo.

Para o filme de resina OSAE incorporado com PCT, verificou-se uma libertação total de 90% ao fim de 24 h de ensaio, mantendo-se constante nas 48 h seguintes. No entanto, 48% do fármaco é libertado na primeira hora, o que demonstra que é nesse período que decorre a libertação de metade do composto libertado.

O filme de resina OSAE incorporado com AAS, liberta um total de 55% ao fim de 24 h de ensaio mantendo-se constante nas 48 h seguintes. Verifica-se que 47% do fármaco é libertado na primeira hora, o que demonstra que é neste período que decorre a libertação da maior parte deste composto.

Para o filme de resina OSAE incorporado com DCF observa-se uma maior dificuldade em libertar o fármaco, verificando-se uma libertação de 5% apenas passadas 4 h de ensaio. Apresenta um perfil de libertação muito gradual atingindo 23% ao final de 24 h e subindo progressivamente para 33% no decorrer das 48 h seguintes. Este resultado confirma uma cinética de libertação diferente da observada para os filmes R-PCT e R-AAS.

No filme de resina OSAE incorporado com TTC verifica-se um perfil de libertação lento e progressivo, atingindo os 13% ao final de 4 h. Verifica-se que 23% do fármaco é libertado ao final de 24 h mantendo-se constantes nas 48 h seguintes. Este composto revela um comportamento semelhante ao DCF, também neste caso, a libertação é bastante gradual.

De acordo com o esperado, também no caso dos filmes de resina OSAE, os resultados demonstraram que quanto maior a massa molar do fármaco, menor será sua libertação.

### 3.5.4. Análise conjunta dos resultados de libertação

Na Tabela 4 apresentam-se os resultados obtidos, para a libertação dos quatro fármacos em estudos incorporados nos diferentes materiais produzidos (filmes e peças 3D).

**Tabela 4** – Resultados de libertação, em etanol, dos diferentes fármacos incorporados nos diferentes materiais produzidos, no final de 24 h.

		Libertação da Substância ativa (%)			
		PCT	AAS	DCF	TTC
Filmes	Resina Anycubic®	84	83	39	11
	Resina OSAE	89	55	22	23
	PVA	55	53	64	27
Peças 3D de resina Anycubic®	Espessa com Furos	52	50	18	13
	Espessa lisa	26	26	16	10
	Fina com furos	42	23	20	19
	Fina lisa	38	24	17	14

Em suma, a análise conjunta dos resultados obtidos nas libertações de fármacos em estudo, permitiu verificar que a tendência de libertação segue, na generalidade, o mesmo perfil para os filmes e para as peças 3D, em que as maiores percentagens de libertação estão relacionadas com as menores massas molares dos compostos.

Comparando os resultados obtidos para a libertação dos filmes de resinas, Anycubic® e OSAE, a primeira mostrou, na globalidade, melhores resultados de libertação, para os compostos estudados, no final de 24h.

Relativamente aos filmes de PVA, estes mostraram um comportamento de libertação diferente, mostrando que, provavelmente, existem interações entre os compostos estudados e a matriz de PVA. Admite-se que estas interações estruturais sejam responsáveis pelos resultados observados.

No que se refere às peças de resina Anycubic® produzidas verifica-se que, na generalidade, os perfis de libertação das peças seguem a tendência observada para os filmes da mesma resina, em que as maiores taxas de libertação são registadas para os compostos de menor massa molecular.

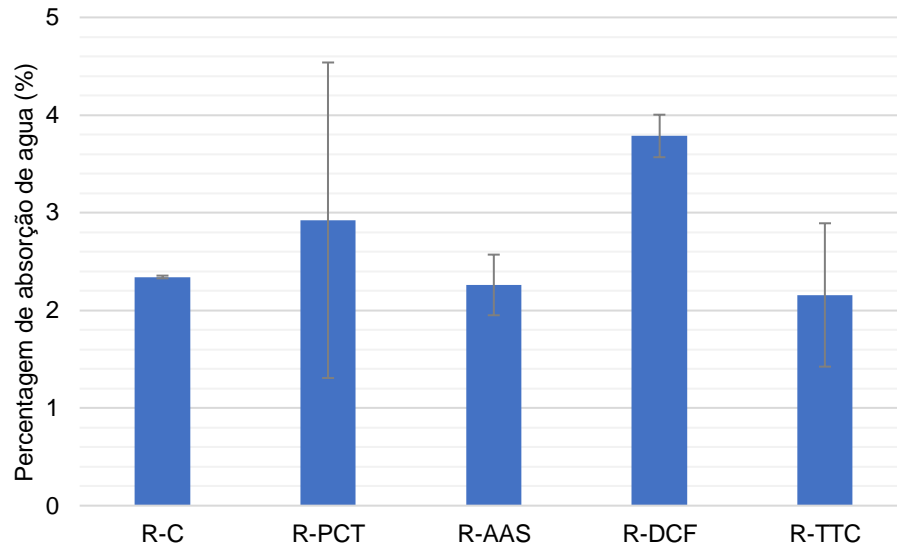
Comparando os resultados obtidos entre as peças com furos e as peças lisas (sem furos) apesar de, na generalidade, as libertações serem maiores, como esperado, nas peças com furos, as diferenças observadas não são significativas. À exceção dos resultados obtidos nas peças grossas incorporadas com PCT e AAS, que apresentam variações de 26% e 24% entre peças com furos e sem furos, nas restantes peças analisadas as diferenças variam entre 1 a 5 %.

Também quando se comparam os resultados obtidos entre peças com espessuras diferentes verifica-se que não existem diferenças significativas.

Assim constatou-se que a incorporação de furos permite uma maior libertação, provavelmente pelo aumento da área de contacto, no entanto, a sua espessura deveria ser maior, para permitir uma maior permeabilidade e contacto com o solvente.

### **3.6. Ensaios de absorção de água**

Realizaram-se os ensaios de absorção de água de acordo com a metodologia descrita no capítulo 2 Materiais e Métodos, com o objetivo de quantificar a percentagem de água absorvida pelas amostras de filmes de resina com e sem incorporação, durante um período de 24 horas. Esta é uma propriedade importante no estudo de matrizes poliméricas já que avalia a capacidade de hidratação do polímero, propriedade que possui efeito na libertação da substância incorporada. Os resultados obtidos encontram-se Figura 31.



**Figura 31** – Absorção de água dos filmes de resina Anycubic® controlo e incorporados com os compostos após 24 h.

A análise dos resultados permite verificar que, no final de 24h, os filmes de resina Anycubic® incorporados com AAS e TTC apresentam uma percentagem de absorção de água muito semelhante à do filme de resina controlo, de aproximadamente 2%. Relativamente aos filmes incorporados com PCT e DCF verifica-se que, ao fim de 24h, a percentagem de absorção de água é ligeiramente superior aos restantes, atingindo um valor de 3% e 4%, respectivamente. Estes resultados podem ser explicados pelas propriedades do polímero, visto que a resina utilizada é hidrofóbica e limita a penetração de água ou meios aquosos nas suas cadeias, fazendo com que o polímero tenha pouca mobilidade.

O estudo não pode ser realizado em filmes de PVA, uma vez que este é hidrossolúvel.

### 3.7. Ensaaios de tração

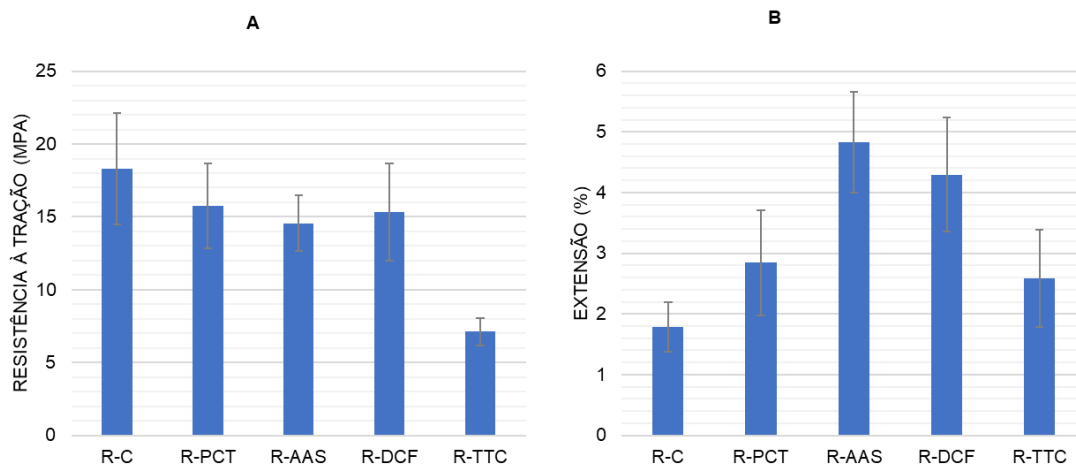
Os ensaios de tração foram realizados de acordo com o explicado no ponto 2.9 dos Materiais e Métodos e os resultados obtidos para os filmes de resina Anycubic® e PVA apresentam-se nas Figuras 32 e 33, respetivamente.

A observação dos resultados obtidos, para os filmes de resina, permite verificar que a incorporação de compostos diminui a resistência à tração dos filmes produzidos.

O filme controlo apresenta uma resistência à tração de 18 MPa, que diminui em aproximadamente 2 a 4 % para os filmes incorporados com paracetamol, aspirina e diclofenaco e 10 % para o filme incorporado com tetraciclina. Admite-se que estes

resultados sejam consequência da fraca interação que se estabelece entre a TTC e a resina. Recorde-se que no caso da TTC não foi possível produzir filmes com 10 % de composto, por não ser possível formar um filme, o que sugere que a interação com este composto é frágil e justifica a menor resistência deste filme.

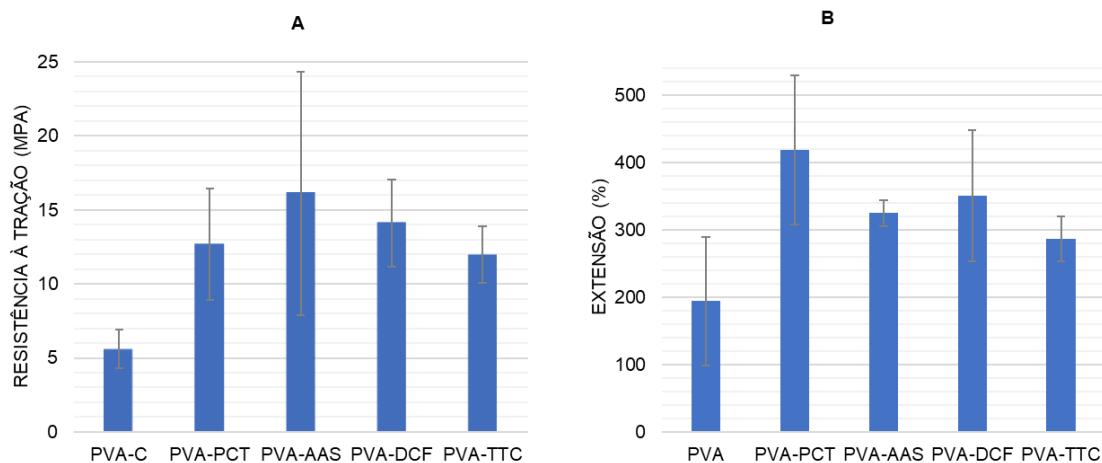
Relativamente aos dados obtidos para a extensão, verifica-se que a tendência é oposta à variação da resistência mecânica, com o filme controlo a apresentar um valor inferior (1,8%) relativamente aos valores encontrados para os filmes dopados (2,6 a 4,7%), tornando estes últimos menos frágeis.



**Figura 32** - Gráfico representativo dos resultados obtidos nos ensaios de resistência à tração dos filmes de resina Anycubic® controlo e incorporados com os fármacos PCT, AAS, DCF e TTC; **A)** Resistência à tração máxima; **B)** Extensão máxima.

Em termos de tendência os resultados obtidos para os filmes de PVA são o oposto dos obtidos para os filmes de resina. Neste caso verifica-se que o filme controlo de PVA apresenta uma resistência à tração de 5,5 MPa, inferior ao filme de resina Anycubic®, e que a incorporação de compostos conduz a um aumento deste valor (Figura 33). O filme incorporado com AAS revelou ser o que apresentou a maior subida neste parâmetro (16 MPa), seguindo-se dos filmes incorporados com DCF (14 MPa), PCT (13,5 MPa) e TTC (12 MPa), respetivamente.

Relativamente aos dados obtidos para a extensão, verifica-se que a evolução é semelhante à obtida para a variação da resistência mecânica, com o filme controlo a apresentar um valor inferior (194%) relativamente aos valores encontrados para os filmes dopados (287 a 418%), tornando estes últimos ainda mais adequados para aplicações como filmes.

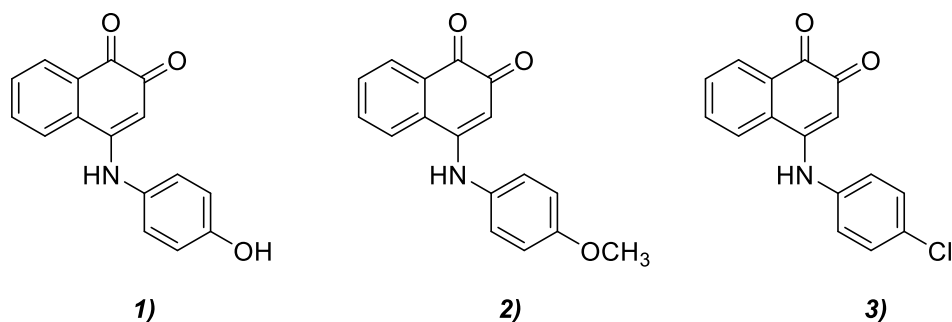


**Figura 33** - Gráfico representativo dos resultados obtidos nos ensaios de resistência à tração dos filmes de PVA controle e incorporados com os fármacos PCT, AAS, DCF e TTC; **A)** Resistência à tração máxima; **B)** Extensão máxima.

A análise global dos resultados obtidos permite verificar que a incorporação dos fármacos, quer na matriz de resina quer na matriz de PVA, confere um maior alongamento antes da sua fratura, propriedade mecânica relevante na produção de filmes.

### 3.8. Produção e caracterização de filmes incorporados com naftoquinonas

Confirmada a capacidade da resina Anycubic® como matriz para a libertação de diferentes compostos ativos, avançou-se para a terceira fase do trabalho com o objetivo de produzir filmes incorporados com compostos da família das 1,2-naftoquinonas, como materiais com potenciais propriedades antimicrobianas. Foram selecionados três compostos, produzidos no nosso grupo de investigação<sup>67</sup>, derivados da 1,2-naftoquinona, designadamente o 4-(4-aminofenol)-1,2-naftoquinona (**1**), o 4-(4-metoxianilina)-1,2-naftoquinona (**2**) e o 4-(4-cloroanilina)-1,2-naftoquinona (**3**), cujas estruturas se apresentam na Figura 34.



**Figura 34** – Estruturas químicas dos derivados da 1,2-naftoquinona; **1)** 4-(4-aminofenol)-1,2-naftoquinona; **2)** 4-(4-metoxianilina)-1,2-naftoquinona; **3)** 4-(4-cloroanilina)-1,2-naftoquinona.

Como composto, para a produção do filme de resina Anycubic® de controlo positivo, foi utilizada a gentamicina, um antibiótico usado no tratamento de diversas infeções bacterianas, que atua geralmente contra bacilos aeróbios Gram-negativos e algumas bactérias Gram-positivas <sup>72</sup> cuja estrutura se apresenta na Figura 35.

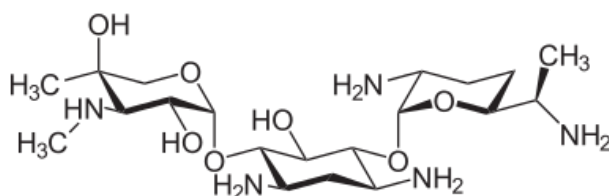
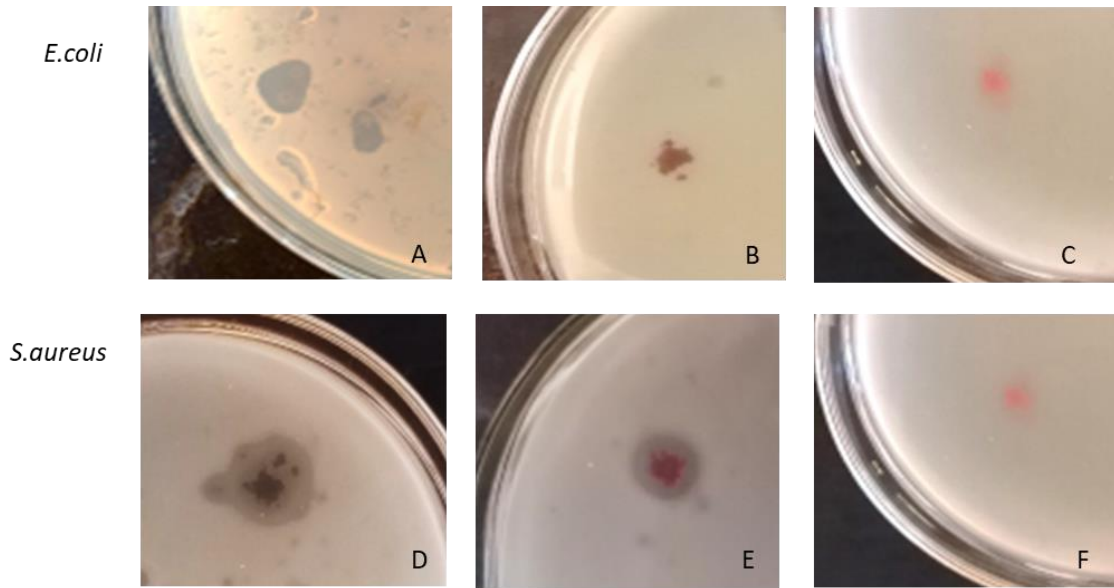


Figura 35 - Estrutura química da gentamicina.

Antes de se proceder à preparação dos filmes dopados avaliou-se o potencial antimicrobiano dos compostos **1**, **2** e **3** contra as estirpes *E. coli* (Gram-negativo) e *S. aureus* (Gram-positivo). Os resultados obtidos para os ensaios microbiológicos apresentam-se na Figura 36.



**Figura 36** - Resultados obtidos com 2 mg de composto para **A e D)** composto 1; **B e E)** composto 2; **C e F)** composto 3.contra ambas as estirpes *E.coli* e *S.aureus*;

Os resultados obtidos foram dispares, com o composto **1** a promover a formação de halo de inibição com um raio de 0,3 cm para a estirpe Gram-negativa e de 0,8 cm para a estirpe Gram-positiva, o composto **2** a formar um halo de inibição de raio 0,6 cm no ensaio contra a estirpe *S.aureus* e sem halo para a estirpe *E.coli* e o composto **3** a revelar-se inativo contra ambas as estirpes. Com base nestes resultados selecionaram-se os compostos **1** e **2** para a produção dos filmes dopados.

Foram produzidos filmes de resina Anycubic® incorporados com os compostos **1** e **2** (0,1% e 1% m/m) e com gentamicina (5% m/m) como controlo positivo, cujas referências se apresentam na Tabela 5.

**Tabela 5** – Filmes de resina Anycubic® incorporados com os compostos **1** e **2** e a gentamicina

Filmes		
	Compostos ativos	Referência
Resina Anycubic®	-	R-C
	0,1% de <b>1</b>	R-OH-1
	1% de <b>1</b>	R-OH-2
	0,1% de <b>2</b>	R-OCH <sub>3</sub> -1
	1% de <b>2</b>	R-OCH <sub>3</sub> -2
	0,5% de Gentamicina	R-G

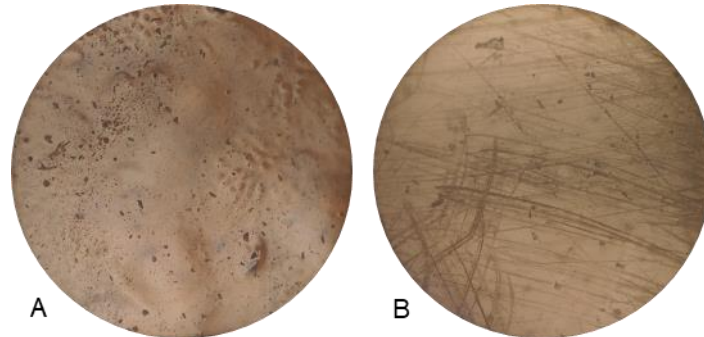
Os filmes de resina Anycubic®, produzidos nesta terceira fase do trabalho, apresentaram um aspeto semelhante aos filmes produzidos na primeira fase, com uma espessura de 1 mm, densos e com pouca maleabilidade/flexibilidade. Os filmes incorporados com as naftoquinonas **1** e **2** adquiriram uma tonalidade avermelhada, consequência da cor dos compostos sólidos, tal como se observa na Figura 37.



**Figura 37** - Filmes de resina Anycubic® incorporados com **A)** R-OH-1; **B)** R-OCH<sub>3</sub>-2.

Os filmes apresentaram-se homogêneos à escala macroscópica e observam-se alguns defeitos e rugosidade à escala microscópica (Figura 38), que não são visíveis à vista desarmada. Verificou-se também que a incorporação dos compostos ativos não modificou as características visuais, indicando boa compatibilidade entre a resina e os compostos

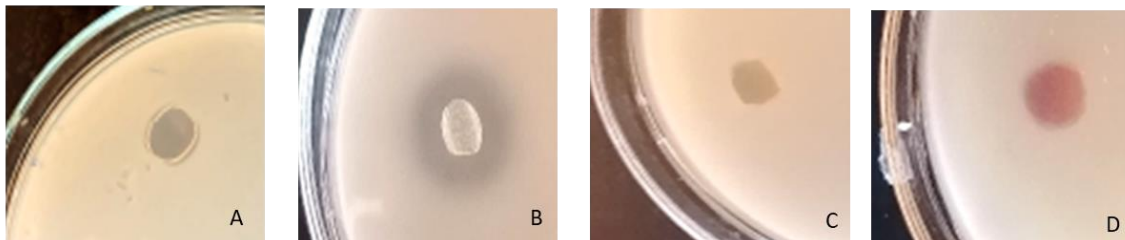
incorporados. Para uma melhor e eficaz avaliação morfológica da estrutura superficial e aspectos topográficos dos diferentes filmes pretende-se que as amostras possam ser investigadas futuramente à escala nanométrica num microscópio eletrónico de varrimento.



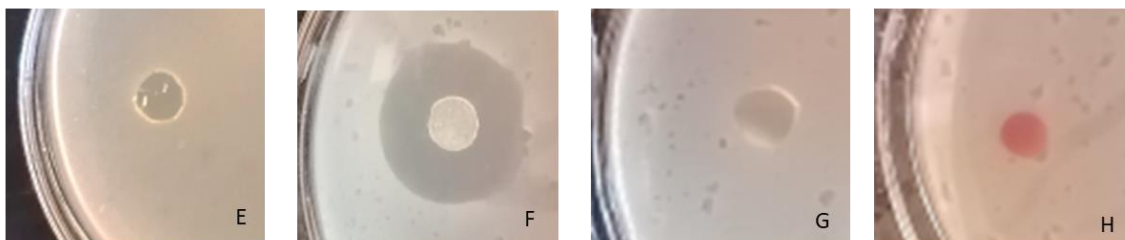
**Figura 38** - Imagens microscópicas dos filmes de resina com uma ampliação de 100x; **A)** R-OH; **B)** R-OCH<sub>3</sub>.

Os filmes produzidos foram avaliados relativamente às suas propriedades antimicrobianas de acordo com o procedimento descrito no ponto 2.10 do capítulo Materiais e Métodos. Não foram utilizados filmes PVA pois o filme controlo e incorporado com gentamicina dissolveram completamente em meio de agar.

*E.coli*



*S. aureus*



**Figura 39** – Ensaio antimicrobianos; **A e E)** Filmes R-C; **B e F)** Filmes R-G; **C e G)** Filmes R-OH-1; **D e H)** Filmes R-OCH<sub>3</sub>-2

A análise dos resultados permite verificar que o filme de resina Anycubic® controlo não promove a formação de halo inibição para nenhuma das estirpes estudadas, revelando que o material base não tem efeito antimicrobiano e os potenciais resultados de inibição dos materiais dopados serão consequência dos compostos incorporados. Para o filme

controlo positivo, incorporado com gentamicina, verificou-se a esperada formação de halo de inibição, revelando que a resina Anycubic® permite a difusão da gentamicina.

Relativamente aos filmes incorporados com os compostos **1** e **2**, nas duas percentagens em estudo (0,1 e 1% m/m), verificou-se que não houve formação de halo de inibição para nenhuma das percentagens em estudo (Figura 39). A interpretação deste resultado, em conjunto com o facto dos compostos isolados apresentarem atividade antimicrobiana, sugere que a difusão da resina é muito lenta.

## 4. Conclusões e Perspetivas Futuras

Com o presente trabalho pretendeu-se avaliar a potencialidade da utilização de uma bioresina fotossensível, derivada do óleo de soja, como suporte para sistemas de libertação controlada de fármacos. Para isso foram produzidos filmes e peças impressas em 3D, dopados com fármacos com diferentes propriedades farmacológicas. Paralelamente também se avaliou o uso de álcool polivinílico, um polímero biocompatível, para a produção de filmes com o mesmo fim. O paracetamol, o ácido acetilsalicílico, o diclofenaco e a tetraciclina foram escolhidos como compostos farmacêuticos modelo e, posteriormente, foram estudados derivados de naftoquinonas com potenciais propriedades antimicrobianas

Os materiais híbridos produzidos foram caracterizados química e mecanicamente, e os perfis de libertação dos fármacos comerciais foram registados em etanol, por 24 h, por espectroscopia de UV-vis. Verificou-se que, na generalidade, os perfis de libertação são dependentes da massa molecular dos compostos estudados, em que os de menor massa molecular apresentaram maiores taxas de libertação. Assim, o paracetamol apresentou as maiores taxas de libertação e a tetraciclina as menores. Averiguou-se ainda que, em geral, quer para os filmes quer para as peças produzidas a tendência de libertação se manteve, ainda que se tenha verificado uma diminuição nas percentagens de libertação para as peças impressas em 3D. Este facto pode ser consequência de as peças serem produzidas camada por camada, resultando em objetos mais espessos que os filmes, fazendo com que a libertação dos fármacos seja mais difícil, mesmo com a construção de pequenos furos.

Na caracterização ótica das amostras produzidas observou-se que à escala macroscópica os filmes de resina produzidos apresentaram um perfil homogéneo e sem diferenças significativas entre o filme controlo e os filmes dopados. Quando analisadas por FTIR-ATR e por TGA também, de uma forma geral, os espectros e termogramas apresentam um perfil muito semelhante entre o filme controlo e os filmes dopados. Os ensaios de absorção de água demonstraram uma baixa percentagem de absorção para os materiais produzidos com resina Anycubic®, o que era um resultado esperado uma vez que a resina após cura resulta num material muito compacto.

Com os filmes de álcool polivinílico, quando observado ao microscópio, verificou-se que o filme controlo apresentava “vazios” que não eram visíveis à vista desarmada. A incorporação dos fármacos em estudo, resultou em filmes com estruturas microscópicas diferentes sugerindo-se, dos resultados óticos obtidos, que poderá existir uma maior compatibilidade entre o PVA com o AAS e com a TTC, do que entre o PVA e o PCT e o DCF. Quando analisado os espectros de FTIR-ATR não é possível verificar se existe

formação de novas ligações entre a matriz e os compostos e a análise termogravimétrica mostra que, apesar de existirem ligeiras diferenças entre o filme controlo e os filmes dopados, as perdas mássicas são em intervalos semelhantes para todos os filmes de PVA produzidos. Não foram realizados ensaios de absorção de água nem microbiológicos, pois o PVA é solúvel em água.

Quanto aos ensaios de tração verificou-se que os resultados apresentam uma tendência oposta nos filmes de resina Anycubic® quando comparados com os filmes de PVA. A incorporação dos fármacos conduziu a uma diminuição da resistência à tração nos filmes de resina e a um aumento nos filmes de PVA. Admite-se que este facto esteja relacionado com diferentes interações que sejam estabelecidas entre as matrizes e os fármacos.

Com os ensaios microbiológicos, realizados com filmes dopados com os derivados de naftoquinonas, utilizando-se a gentamicina como composto antimicrobiano controlo, constatou-se que a resina Anycubic®, estudada neste trabalho, poderá ser uma boa base para libertação de alguns compostos, uma vez que com o fármaco padrão (a gentamicina) ocorreu inibição em ambas as bactérias usadas. No entanto, a libertação dos compostos, derivados da naftoquinona, em estudo, não se revelou eficaz sugerindo que terá de existir um maior esforço para encontrar a formulação ideal para a utilização destes compostos.

Em suma a resina usada demonstra um potencial para base como sistema libertador de fármacos. A sua versatilidade como filme e peças 3D também sugere que poderá ser utilizado em aplicações biomédicas, tal como para aplicações transdérmicas ou mesmo como *scaffold*.

Como perspetivas de trabalho futuro sugere-se proceder a um estudo de libertação em meio fisiológico, de forma a perceber a influência do sistema de transporte nos perfis de libertação e, desta forma, melhor caracterizar as matrizes de suporte, em estudo, como sistemas de libertação controlada.

Sugere-se ainda melhorar os estudos antimicrobianos iniciados e conduzir estudos semelhantes com a resina OSAE. De forma a validar as matrizes de resinas, como sistemas de libertação controlada para aplicações antimicrobianas. Seria também interessante estudar a incorporação de outros compostos com atividade antimicrobiana comprovada, de forma a produzir materiais híbridos com potencialidade para serem utilizados para esse fim.

Por fim sugere-se avaliar a viabilidade de produzir misturas de resina OSAE com diferentes fotoiniciadores, com o objetivo de produzir peças impressas em 3D com esta resina.

Parte dos resultados obtidos no decorrer deste trabalho final de mestrado foi apresentado como comunicação em poster:

Num encontro nacional – Patornilo, Mariana; Sousa, Ana Catarina; Cabral, Rafaela; Bragança, Ivo Manuel. **2021**. “Biobased polymeric films for drug delivery systems.” CQE Days, Spring meeting, 27-28 maio de 2021, evento online.

Num encontro internacional – Patornilo, Mariana; Bragança, Ivo Manuel; Sousa, Ana Catarina. **2021**. “Plant-based UV Eco-Resin films and 3D printed pieces dopped with active pharmaceutical compounds for controlled drug delivery systems” 15th International conference on materials chemistry, 12 a 15 de julho de 2021, evento online.



## 5. Referências Bibliográficas

1. Sanchez C, Julián B, Belleville P, Popall M. Applications of hybrid organic–inorganic nanocomposites. *J Mater Chem*. 2005;15(35-36):3559-3592. doi:10.1039/B509097K
2. Wang Y, Burgess DJ. Drug-device combination products. In: *Drug-Device Combination Products: Delivery Technologies and Applications*. Woodhead Publishing; 2009:3-28. doi:10.1533/9781845697488.1.3
3. Jamróz W, Szafraniec J, Kurek M, Jachowicz R. 3D Printing in Pharmaceutical and Medical Applications – Recent Achievements and Challenges. *Pharm Res*. 2018;35(9):1-22. doi:10.1007/S11095-018-2454-X/FIGURES/11
4. Elkasabgy NA, Mahmoud AA, Maged A. 3D printing: An appealing route for customized drug delivery systems. *Int J Pharm*. 2020;588:119732. doi:10.1016/J.IJPHARM.2020.119732
5. Ahn J, Yoon S, Kim JY, Lee YG, Cho KY. The controlled release of active substance from one-dimensional inorganic nanocarrier for the stability enhancement of lithium batteries. *Chem Eng J*. 2022;427. doi:10.1016/J.CEJ.2021.131748
6. Sander A, Bizerra R, Silva VV. Caracterização de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos : Mecanismos e Aplicações. *Rev Saúde e Meio Ambient*. 2015;3(2):4-6.
7. Gherasim O, Popescu-Pelin G, Florian P, et al. Bioactive Ibuprofen-Loaded PLGA Coatings for Multifunctional Surface Modification of Medical Devices. *Polymers (Basel)*. 2021;13(9). doi:10.3390/POLYM13091413
8. Vidyalakshmi K, Rashmi KN, Kumar TMP, Siddaramaiah. Studies on Formulation and In Vitro Evaluation of PVA/Chitosan Blend Films for Drug Delivery. <http://dx.doi.org/101081/MA-200026554>. 2007;41 A(10):1115-1122. doi:10.1081/MA-200026554
9. Srivastava A, Yadav T, Sharma S, et al. Polymers in Drug Delivery. *J Biosci Med*. 2015;4(1):69-84. doi:10.4236/JBM.2016.41009
10. Gad SE. *Polymers*. Academic Press; 2014. doi:10.1016/B978-0-12-386454-3.00912-X
11. ter Horst B, Moiemmen NS, Grover LM. Natural polymers: biomaterials for skin scaffolds. *Biomater Ski Repair Regen*. Published online January 1, 2019:151-192. doi:10.1016/B978-0-08-102546-8.00006-6
12. Alves TFR, Morsink M, Batain F, et al. Applications of Natural, Semi-Synthetic, and Synthetic Polymers in Cosmetic Formulations. *Cosmet 2020, Vol 7, Page 75*. 2020;7(4):75. doi:10.3390/COSMETICS7040075
13. Villanova JCO, Oréface RL, Cunha AS. Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros*. 2010;20(1):51-64. doi:10.1590/S0104-14282010005000009
14. Chen H, Yuan L, Song W, Wu Z, Li D. Biocompatible polymer materials: Role of protein–

- surface interactions. *Prog Polym Sci.* 2008;33(11):1059-1087. doi:10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2008.07.006
15. Puppi D, Chiellini F, Piras AM, Chiellini E. Polymeric materials for bone and cartilage repair. *Prog Polym Sci.* 2010;35(4):403-440. doi:10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2010.01.006
16. Afzal A, Nawab Y. *Polymer Composites.* Woodhead Publishing; 2021. doi:10.1016/B978-0-12-821984-3.00003-6
17. Marhoon II. Mechanical properties of composite materials reinforced with short random glass fibers and ceramics particles. *Int J Sci Technol Res.* 2018;7(8):50-53.
18. Biswal T, BadJena SK, Pradhan D. Synthesis of polymer composite materials and their biomedical applications. *Mater Today Proc.* 2020;30:305-315. doi:10.1016/J.MATPR.2020.01.567
19. Liu X, Wu Y, Zhao X, Wang Z. Fabrication and applications of bioactive chitosan-based organic-inorganic hybrid materials: A review. *Carbohydr Polym.* 2021;267:118179. doi:10.1016/J.CARBPOL.2021.118179
20. resina - Infopédia. Accessed January 25, 2022. [https://www.infopedia.pt/\\$resina](https://www.infopedia.pt/$resina)
21. 5 tipos de resina e onde são utilizadas - Retaprene Poliuretanos. Accessed January 25, 2022. <https://www.retaprene.com.br/tipos-de-resina-e-onde-sao-utilizadas/>
22. Cui Y, Yang J, Lei D, Su J. 3D Printing of a Dual-Curing Resin with Cationic Curable Vegetable Oil. *Ind Eng Chem Res.* 2020;59(25):11381-11388. doi:10.1021/ACS.IECR.0C01507/SUPPL\_FILE/IE0C01507\_SI\_001.PDF
23. Liu W, Fei M en, Ban Y, Jia A, Qiu R. Preparation and Evaluation of Green Composites from Microcrystalline Cellulose and a Soybean-Oil Derivative. *Polymers (Basel).* 2017;9(10). doi:10.3390/POLYM9100541
24. Miao S, Zhu W, Castro NJ, et al. 4D printing smart biomedical scaffolds with novel soybean oil epoxidized acrylate. *Sci Reports 2016 61.* 2016;6(1):1-10. doi:10.1038/srep27226
25. Wu Q, Hu Y, Tang J, et al. High-Performance Soybean-Oil-Based Epoxy Acrylate Resins: “green” Synthesis and Application in UV-Curable Coatings. *ACS Sustain Chem Eng.* 2018;6(7):8340-8349. doi:10.1021/ACSSUSCHEMENG.8B00388/SUPPL\_FILE/SC8B00388\_SI\_001.PDF
26. Anycubic Plant-based UV Eco-Resin – ANYCUBIC 3D Printing. Accessed January 24, 2022. <https://www.anycubic.com/products/anycubic-plant-based-uv-resin>
27. Bajpai PK, Singh I, Madaan J. Development and characterization of PLA-based green composites: A review. <http://dx.doi.org/10.1177/0892705712439571>. 2012;27(1):52-81. doi:10.1177/0892705712439571
28. Liu Z, Erhan SZ, Akin DE, Barton FE. “Green” composites from renewable resources:

- preparation of epoxidized soybean oil and flax fiber composites. *J Agric Food Chem.* 2006;54(6):2134-2137. doi:10.1021/JF0526745
29. Zhang Y, Kumar Thakur V, Li Y, Garrison TF, Gao Z, Kessler MR. Soybean Oil-based Thermosetting Resins with Methacrylated Vanillyl Alcohol as Bio-based Reactive Diluent. *Macromol Mater Eng.* 2018;303(1):1700278. doi:10.1002/mame.201700278
30. Zaferani SH. Introduction of polymer-based nanocomposites. *Polym Nanocomposites Energy Environ Appl A Vol Woodhead Publ Ser Compos Sci Eng.* Published online January 1, 2018:1-25. doi:10.1016/B978-0-08-102262-7.00001-5
31. Sarwar MS, Niazi MBK, Jahan Z, Ahmad T, Hussain A. Preparation and characterization of PVA/nanocellulose/Ag nanocomposite films for antimicrobial food packaging. *Carbohydr Polym.* 2018;184:453-464. doi:10.1016/j.carbpol.2017.12.068
32. Chiellini E, Corti A, D'Antone S, Solaro R. Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials. *Prog Polym Sci.* 2003;28(6):963-1014. doi:10.1016/S0079-6700(02)00149-1
33. Georgieva N, Bryaskova R, Tzoneva R. New Polyvinyl alcohol-based hybrid materials for biomedical application. *Mater Lett.* 2012;88:19-22. doi:10.1016/J.MATLET.2012.07.111
34. Huang J, Bian H, Wang M, Miao X, Li H, Chen C. Effect of Length of Cellulose Nanofibers on Mechanical Reinforcement of Polyvinyl Alcohol. *Polym 2022, Vol 14, Page 128.* 2021;14(1):128. doi:10.3390/POLYM14010128
35. Aycan D, Yayla NA, Aydin YA. Chitosan polyvinyl alcohol blend films for ibuprofen encapsulation: Fabrication, characterization and kinetics. *Polym Degrad Stab.* 2020;181:109346. doi:10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2020.109346
36. Vithani K, Goyanes A, Jannin V, Basit AW, Gaisford S, Boyd BJ. An Overview of 3D Printing Technologies for Soft Materials and Potential Opportunities for Lipid-based Drug Delivery Systems. *Pharm Res 2018 361.* 2018;36(1):1-20. doi:10.1007/S11095-018-2531-1
37. Bhat S. 3D printing equipment in medicine. *3D Print Med Surg.* Published online January 1, 2021:223-261. doi:10.1016/B978-0-08-102542-0.00012-9
38. Durfee WK, Iazzo PA. Medical Applications of 3D Printing. *Eng Med Adv Challenges.* Published online January 1, 2019:527-543. doi:10.1016/B978-0-12-813068-1.00021-X
39. Mazzone S, Bianchi A, Schiariti G, Badiali G, Marchetti C. Computer-Aided Design and Computer-Aided Manufacturing Cutting Guides and Customized Titanium Plates Are Useful in Upper Maxilla Waferless Repositioning. *J Oral Maxillofac Surg.* 2015;73(4):701-707. doi:10.1016/J.JOMS.2014.10.028
40. Xu X, Awad A, Robles-Martinez P, Gaisford S, Goyanes A, Basit AW. Vat photopolymerization 3D printing for advanced drug delivery and medical device applications. *J Control Release.* 2021;329:743-757. doi:10.1016/J.JCONREL.2020.10.008

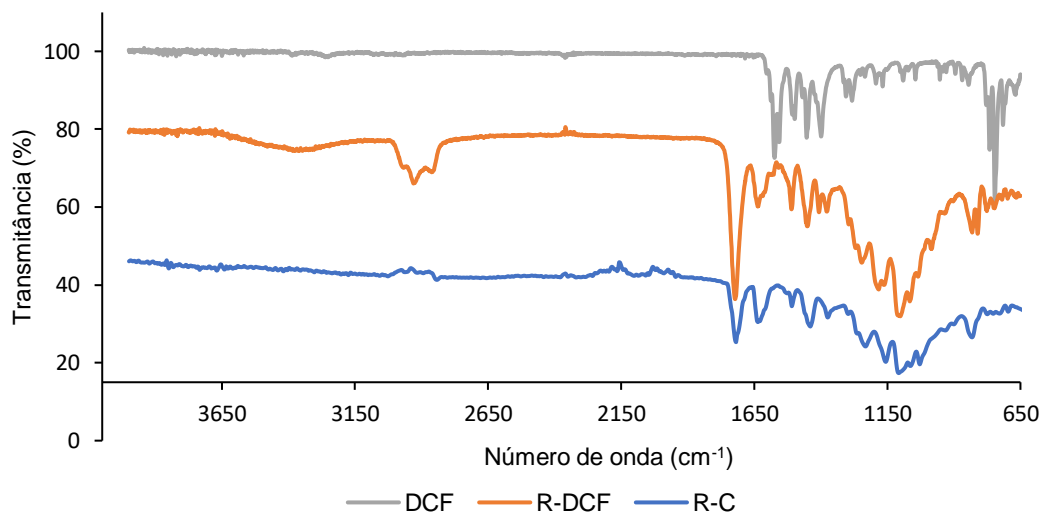
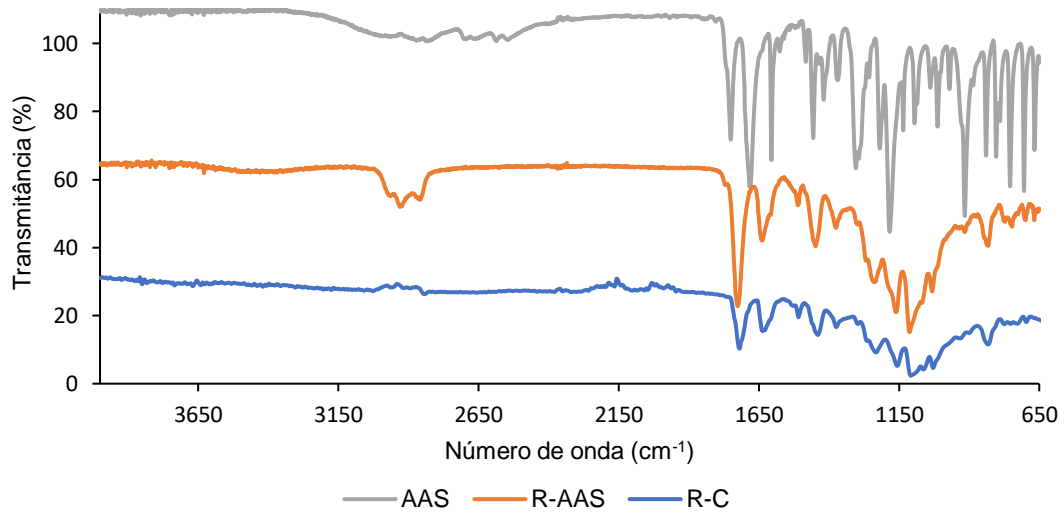
41. Mohammed A, Elshaer A, Sareh P, Elsayed M, Hassanin H. Additive Manufacturing Technologies for Drug Delivery Applications. *Int J Pharm.* 2020;580:119245. doi:10.1016/J.IJPHARM.2020.119245
42. Cui Y, Chen Y, Lei D, Yang J, Yang Y, Su J. Facile method to prepared photoinitiated cationic curable plant oil and its enhancement on the impact strength of cycloaliphatic diepoxide. *Ind Crops Prod.* 2019;135:72-80. doi:10.1016/J.INDCROP.2019.04.028
43. Xu X, Goyanes A, Trenfield SJ, et al. Stereolithography (SLA) 3D printing of a bladder device for intravesical drug delivery. *Mater Sci Eng C.* 2021;120:111773. doi:10.1016/J.MSEC.2020.111773
44. Rosace G, Palucci Rosa R, Arrigo R, Malucelli G. Photosensitive acrylates containing bio-based epoxy-acrylate soybean oil for 3D printing application. *J Appl Polym Sci.* 2021;138(44):51292. doi:10.1002/APP.51292
45. Huh JT, Yoo JJ, Atala A, Lee SJ. Three-dimensional bioprinting for tissue engineering. *Princ Tissue Eng.* Published online January 1, 2020:1391-1415. doi:10.1016/B978-0-12-818422-6.00076-9
46. Borrello J, Nasser P, Iatridis JC, Costa KD. 3D printing a mechanically-tunable acrylate resin on a commercial DLP-SLA printer. *Addit Manuf.* 2018;23:374-380. doi:10.1016/J.ADDMA.2018.08.019
47. Fent K, Weston AA, Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat Toxicol.* 2006;76(2):122-159. doi:10.1016/J.AQUATOX.2005.09.009
48. Joshi S. HPLC separation of antibiotics present in formulated and unformulated samples. *J Pharm Biomed Anal.* 2002;28(5):795-809. doi:10.1016/S0731-7085(01)00706-3
49. Hagren V, Peippo P, Lövgren T. Detecting and controlling veterinary drug residues in poultry. *Food Saf Control Poult Ind.* Published online January 1, 2005:44-82. doi:10.1533/9781845690236.44
50. Paracetamol: o que é, para que serve e como tomar - Tua Saúde. Accessed January 25, 2022. <https://www.tuasaude.com/paracetamol/>
51. Ogawa K, Uchida M, Yamaki T, et al. Delivery of acetaminophen to the central nervous system and the pharmacological effect after intranasal administration with a mucoadhesive agent and absorption enhancer. *Int J Pharm.* 2021;594:120046. doi:10.1016/J.IJPHARM.2020.120046
52. Ghaffarpasand F, Dadgostar E, Ilami G, et al. Intravenous Acetaminophen (Paracetamol) for Postcraniotomy Pain: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *World Neurosurg.* 2020;134:569-576. doi:10.1016/J.WNEU.2019.11.066
53. Singco B, Liu LH, Chen YT, Shih YH, Huang HY, Lin CH. Approaches to drug delivery: Confinement of aspirin in MIL-100(Fe) and aspirin in the de novo synthesis of metal-organic

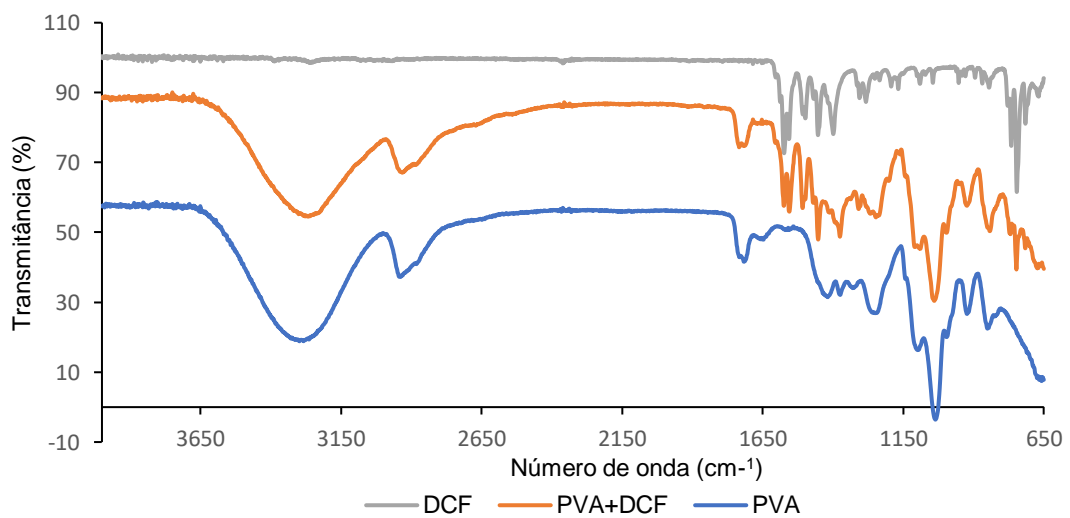
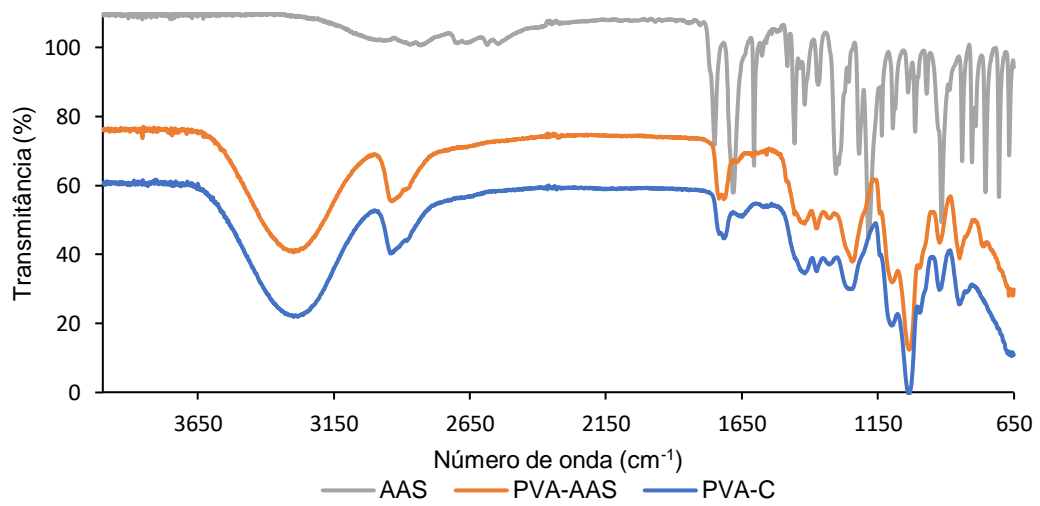
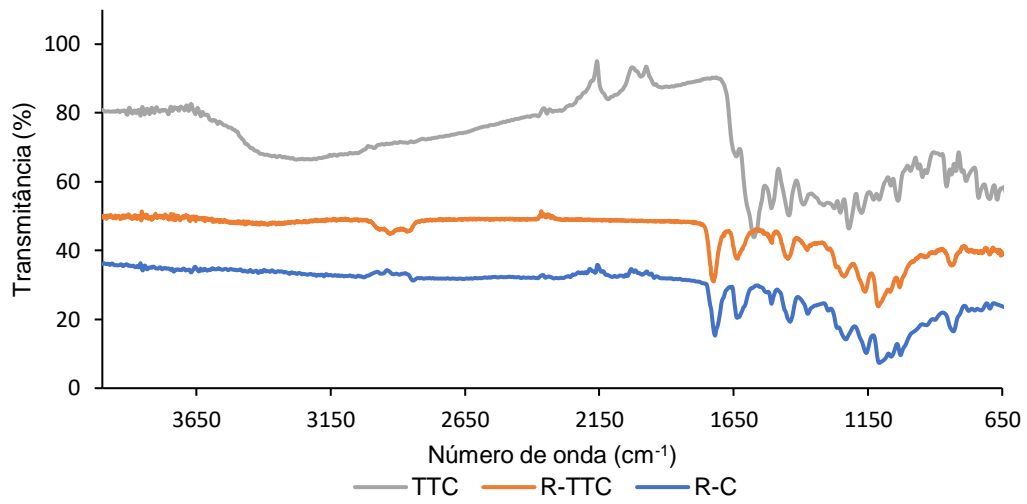
- frameworks. *Microporous Mesoporous Mater.* 2016;223:254-260. doi:10.1016/J.MICROMESO.2015.08.017
54. Ácido acetilsalicílico (AAS): para que serve e como tomar - Tua Saúde. Accessed January 25, 2022. <https://www.tuasaude.com/acido-acetilsalicilico-aspirina/>
55. Ammar HO, Ghorab M, El-Nahhas SA, Kamel R. Design of a transdermal delivery system for aspirin as an antithrombotic drug. *Int J Pharm.* 2006;327(1-2):81-88. doi:10.1016/J.IJPHARM.2006.07.054
56. So PB, Chen HT, Lin CH. De novo synthesis and particle size control of iron metal organic framework for diclofenac drug delivery. *Microporous Mesoporous Mater.* 2020;309:110495. doi:10.1016/J.MICROMESO.2020.110495
57. Fouad SA, Basalious EB, El-Nabarawi MA, Tayel SA. Microemulsion and poloxamer microemulsion-based gel for sustained transdermal delivery of diclofenac epolamine using in-skin drug depot: In vitro/in vivo evaluation. *Int J Pharm.* 2013;453(2):569-578. doi:10.1016/J.IJPHARM.2013.06.009
58. Rao Thumu SC, Halami PM. Presence of erythromycin and tetracycline resistance genes in lactic acid bacteria from fermented foods of Indian origin. *Antonie van Leeuwenhoek* 2012 1024. 2012;102(4):541-551. doi:10.1007/S10482-012-9749-4
59. Clermont D, Chesneau O, De Cespédès G, Horaud T. New tetracycline resistance determinants coding for ribosomal protection in streptococci and nucleotide sequence of tet(T) isolated from *Streptococcus pyogenes* A498. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41(1):112-116. doi:10.1128/AAC.41.1.112
60. Pereira-Maia EC, Silva PP, De Almeida WB, et al. Tetraciclina e gliciliclinas: uma visão geral. *Quim Nova.* 2010;33(3):700-706. doi:10.1590/S0100-40422010000300038
61. Kumagai Y, Shinkai Y, Miura T, Cho AK. The Chemical Biology of Naphthoquinones and Its Environmental Implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2012;52:221-250. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010611-134517
62. De Castro SL, Emery FS, Da Silva Júnior EN. Synthesis of quinoidal molecules: Strategies towards bioactive compounds with an emphasis on lapachones. *Eur J Med Chem.* 2013;69:678-700. doi:10.1016/J.EJMECH.2013.07.057
63. Qiu HY, Wang PF, Lin HY, Tang CY, Zhu HL, Yang YH. Naphthoquinones: A continuing source for discovery of therapeutic antineoplastic agents. *Chem Biol Drug Des.* 2018;91(3):681-690. doi:10.1111/CBDD.13141
64. Bogdanov A V., Mironov VF, Khasiyatullina NR, Krivolapov DB, Litvinov IA, Kononov AI. Formation of (1,2-dihydroxynaphth-4-yl)[tris(diethylamino)]-phosphonium bromides in the reaction of 1,2-naphthoquinones with tris(diethylamino)phosphine. *Mendeleev Commun.* 2007;17(3):183-185. doi:10.1016/J.MENCOM.2007.05.018

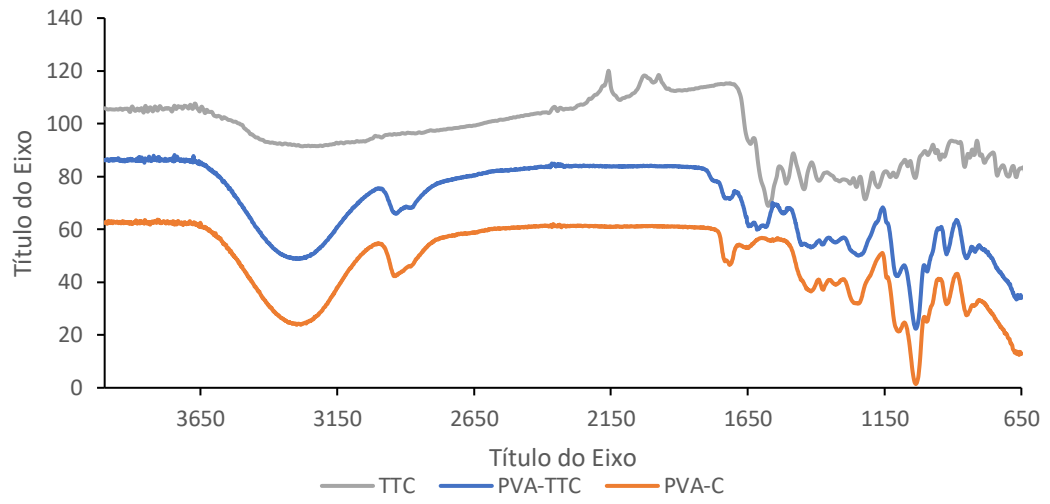
65. Albrecht W, Neumann HG. Biomonitoring of aniline and nitrobenzene - Hemoglobin binding in rats and analysis of adducts. *Arch Toxicol*. 1985;57(1):1-5. doi:10.1007/BF00286566
66. Sousa AC, Santos I, Piedade MFMM, Martins LO, Robalo MP. Synthesis of Substituted 4-Arylamino-1,2-naphthoquinones in One-Pot Reactions Using CotA-Laccase as Biocatalyst. *Adv Synth Catal*. 2020;362(16):3380-3387. doi:10.1002/adsc.202000082
67. Sousa AC, Santos I, Piedade MFMM, Martins LO, Robalo MP. Synthesis of Substituted 4-Arylamino-1,2-naphthoquinones in One-Pot Reactions Using CotA-Laccase as Biocatalyst. *Adv Synth Catal*. 2020;362(16):3380-3387. doi:10.1002/ADSC.202000082
68. Dyamenahalli K, Famili A, Shandas R. Characterization of shape-memory polymers for biomedical applications. *Shape Mem Polym Biomed Appl*. Published online January 1, 2015:35-63. doi:10.1016/B978-0-85709-698-2.00003-9
69. Jafarzadeh S, Salehabadi A, Jafari SM. Metal nanoparticles as antimicrobial agents in food packaging. *Handb Food Nanotechnol*. Published online January 1, 2020:379-414. doi:10.1016/B978-0-12-815866-1.00010-8
70. Hockett KL, Baltrus DA. Use of the Soft-agar Overlay Technique to Screen for Bacterially Produced Inhibitory Compounds. *J Vis Exp*. 2017;2017(119):55064. doi:10.3791/55064
71. Fernandes TA, Costa IFM, Jorge P, et al. Silver(I) Coordination Polymers Immobilized into Biopolymer Films for Antimicrobial Applications. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2021;13(11):12836-12844. doi:10.1021/ACSAMI.0C19446/SUPPL\_FILE/AM0C19446\_SI\_003.CIF
72. Andrews J. BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 6). *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(1):20-41. doi:10.1093/JAC/DKM110.

**Anexos**

**Anexo 1.** Espectros de FTIR-ATR das amostras de resina e de PVA com os fármacos, aspirina, diclofenaco e tetraciclina







**Anexo 2.** Perfis de libertação em função do tempo nas peças 3D de diferentes modelos.

