

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS HÍBRIDOS TERMO
E pH SENSÍVEIS, BASEADOS EM ACRILAMIDA, APMA E NIPAM**

Andressa Thais Seefeldt

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, setembro de 2014.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS HÍBRIDOS TERMO
E pH SENSÍVEIS, BASEADOS EM ACRILAMIDA, APMA E NIPAM**

Andressa Thais Seefeldt

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação do Prof. Dr. Ricardo Vinicius Bof de Oliveira e apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em preenchimento parcial dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Porto Alegre
2014

Dedico esse trabalho aos meus pais Alvaro e Jussara e aos meus avós Arlindo e Amanda por eles serem a melhor família que existe e por terem sempre me apoiado.

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer primeiramente a Deus por absolutamente tudo.

Agradeço a minha família maravilhosa por entenderem minha ausência e me apoiarem sem nunca me deixarem duvidar de que estão SEMPRE ali pra mim. Sem o amor de vocês nada disso seria possível ou teria o menor propósito.

Aos Meus avós Arlindo e Amanda que sempre me amaram como filha e aos quais eu amo e sempre vou amar como pais. Ao meu pai Alvaro que me apoiou e ainda me apoia nas minhas decisões, o que me faz muito feliz porque sei que ele é uma pessoa sensata e se ele me apoia é porque estou no caminho certo. A ele ainda por ter me dado um grande presente que é minha irmã Abigail à qual amo incondicionalmente.

Não podendo faltar o agradecimento especial pra minha mãe Jussara pelas noites que me ouviu chorar porque eu não conseguiria me formar e depois que não conseguiria terminar o mestrado. Calma que ainda vai ter um doutorado!! E, é claro, por ser minha inspiração e porto seguro. Eu te amo mais do que qualquer coisa nessa vida!

Agradeço ainda ao meu tio Décio que eu admiro muito e me espelho nele como uma pessoa de grande coração e grande caráter. E também por ter o grande prazer de contar com agregados maravilhosos como meu padrasto Hans e meus irmãos Martin e Jan, além da Clades que muito mais do que madrastra é uma grande amiga.

Agradeço ao meu namorado Lúcio por ser essa pessoa maravilhosa de coração grande e amor infinito. Você me inspira, me apoia e me ajuda. Juntos nós vamos a qualquer lugar porque temos um ao outro e nosso amor gigantesco.

A minha Lana, que esteve ao meu lado nas longas noites que escrevi esse trabalho e contribuiu com várias linhas contendo observações valiosas como “00000ppppgggggaaaaallll1112200”.

Ao professor Ricardo Oliveira pelas oportunidades, pela confiança em mim depositada, pela orientação, pela paciência e também pela amizade.

À professora Rosane por ter me dado tantos conselhos valiosos nessa jornada e por ter estado a minha disposição sempre que precisei.

À professora Melissa Camassola e todo o grupo do laboratório de células-tronco e engenharia de tecidos da ULBRA pela realização dos ensaios de citotoxicidade.

Agradeço aos meus colegas de laboratório K208A por tornarem esse caminho mais fácil e divertido. Eu jamais me esquecerei do CBPol 2013 onde tivemos momentos maravilhosos e muito engraçados juntos. Obrigada a Jéssica pelos incontáveis cafés, desabafos, ajudas nas análises de RMN, ajuda com as soluções tampão e outras inúmeras ajudas que levaria páginas para listar. A Gisele, Gislene e Nataly por terem me ajudado e tirado minhas dúvidas sempre que precisei. Muito obrigada ao Felipe que salvou minhas análises de DSC e foi tantas outras incontáveis vezes extremamente prestativo. Agradeço aos ICs que trabalharam junto comigo durante o mestrado, Rochele e Jônatas, que presenciaram as inúmeras reações que não funcionaram e também as poucas que deram certo. E também à Joice, à Ketlyn e ao Rodrigo que também sempre me ajudaram quando podiam.

Agradeço aos colegas das disciplinas, principalmente a Bibi e Clô que estão ao meu lado desde a graduação sendo muito mais do que colegas, sendo minhas amigas.

Aos colegas de corredor que se tornaram parte da minha vida com as conversas, cafés, jogos da copa e guloseimas que deixam a ciência ainda mais doce. Um agradecimento especial a Claudia que me ajudou muito com minhas análises de DSC e também na saga do pHmetro.

Agradeço aos meus amigos que são minha segunda família por terem entendido minha ausência nos eventos nesses últimos tempos. Pelas ligações para saber se eu continuava viva e me que me fizeram sair de casa pegar sol, tomar chimarrão e espairecer. Ana, Alinne, Francine, Felipe, Guilherme, Harry, Kevin, Mauricio, Rafael, Valquíria, Verônica, Vinicius e William vocês são pessoas tão importantes na minha vida que eu não seria capaz de expressar com palavras tudo que vocês significam pra mim.

Agradeço ainda à Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela infraestrutura e ao CNPq pela bolsa de mestrado e apoio financeiro, além da empresa Artecoba pelo apoio financeiro.

“There is a theory which states that if ever anyone discovers exactly what the Universe is for and why it is here, it will instantly disappear and be replaced by something even more bizarre and inexplicable. There is another theory which states that this has already happened.”

Douglas Adams, *The Hitchhiker's Guide to the Galaxy*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
Lista de Abreviaturas	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 Introdução.....	1
2 Revisão bibliográfica.....	4
2.1 Hidrogéis	4
2.1.1 Classificação dos Hidrogéis	4
2.1.2 Água em Hidrogéis	5
2.2 Aspectos Termodinâmicos dos Hidrogéis	6
2.3 Sistemas de Liberação Controlada de Drogas	7
2.4 Hidrogéis Responsivos	10
2.4.1 Hidrogéis Termossensíveis	12
2.4.2 Hidrogéis Sensíveis ao pH	15
2.4.3 Hidrogéis Responsivos à Temperatura e ao pH.....	18
2.4.4 Hidrogéis Híbridos.....	20
3 Objetivosq	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivos Específicos	23
4 Parte Experimental	24
4.1 Materiais	25
4.2 Métodos	25
4.2.1 Síntese dos Hidrogéis.....	25
4.3 Caracterização dos Hidrogéis	28
4.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho (FT-IR).....	28
4.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN- ¹ H)	28
4.3.3 Análise Termogravimétrica (TGA).....	28
4.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	28
4.3.5 Grau de Inchamento	28
4.3.6 Citotoxicidade	30
5 Resultados e Discussões.....	31

5.1 Síntese dos Hidrogéis – Determinação de Parâmetros	31
5.1.1 Proporção Solvente/Monômero	31
5.1.2 Tempo de Reação.....	31
5.1.3 Síntese dos Hidrogéis.....	32
5.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho (FT-IR)	34
5.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN- ¹ H).....	39
5.4 Análises Térmicas.....	42
5.5 Grau de Inchamento.....	47
5.6 Citotoxicidade.....	57
6 Considerações Finais.....	62
7 Conclusões.....	64
8 Perspectivas	65
9 Referências Bibliográficas	66
10 Anexos.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de publicações da última década contendo a palavra “hydrogel”. Fonte: SciFinder® 25/06/2014.	1
Figura 2. Representação esquemática das curvas farmacocinéticas para (a) meio tradicional de administração e (b) através de DDS. Adaptado de Silva ¹⁸	8
Figura 3. Representação esquemática da expansão de um hidrogel em resposta a estímulos externos. Adaptado de Gupta ⁵	11
Figura 4. Exemplo de monômeros que formam hidrogéis com transição de fase dependente da temperatura: N-isopropilacrilamida e N-vinilcaprolactama.	13
Figura 5. Estrutura química do monômero APMA.	18
Figura 6. Estrutura química do metacril POSS.	22
Figura 7. Esquema da reação de obtenção dos hidrogéis utilizando os três monômeros diferentes.	27
Figura 8. Grau de inchamento em função do tempo para os hidrogéis de NIPAm com 12, 24, 36 e 48 horas de reação.	32
Figura 9. Estrutura químicas dos monômeros utilizados na obtenção dos hidrogéis.	33
Figura 10. Espectro de infravermelho do reticulante metacril POSS.	35
Figura 11. Espectro de FT-IR do hidrogel de AM com e sem a presença do reticulante metacril POSS.	36
Figura 12. Espectro do FT-IR referente ao hidrogel NIPAm.	37
Figura 13. Espectro de FR-TR dos hidrogéis de terpolímeros.	38
Figura 14. Espectros de FT-IR do hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85.	38
Figura 15. Espectros de RMN- ¹ H das amostras AM e NIPAm.	39
Figura 16. Espectro de RMN- ¹ H do APMA15-NIPAm85.	40
Figura 17. Espectros de RMN- ¹ H dos hidrogéis AM1-APMA1-NIPAm4 e AM1-APMA4-NIPAm1.	42
Figura 18. TGA e DTG dos hidrogéis de homopolímeros de AM (AM) e NIPAm (NIPAm).	43
Figura 19. Curvas de TGA dos hidrogéis de terpolímeros.	44
Figura 20. Curvas de DTG dos hidrogéis de terpolímeros.	45
Figura 21. Curvas de TGA dos hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85.	46

Figura 22. Curvas de DTG dos hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85.....	46
Figura 23. Possível configuração química para formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias de poliacrilamida no hidrogel.	48
Figura 24. Comportamento de inchamento do hidrogel de NIPAm. (a) hidrogel seco em estufa a vácuo, (b) hidrogel após 24 em solução em temperatura abaixo da LCST e (c) hidrogel após 24 horas em solução acima da LCST.	48
Figura 25. Grau de inchamento em função da temperatura dos hidrogéis AM (a) e NIPAm(b).	49
Figura 26. NIPAm após 24 h a 28 °C em (a) água Milli-Q e (b) solução tampão de fosfato. .	50
Figura 27. Grau de inchamento em função da temperatura dos hidrogéis de terpolímeros.	50
Figura 28. Grau de inchamento em função da temperatura dos hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85	53
Figura 29. Grau de Inchamento em função do pH dos hidrogéis de terpolímeros.....	54
Figura 30. Grau de Inchamento em função do pH para os hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85.	56
Figura 31. Taxa de morte celular das células L929 após contato direto com os hidrogéis em comparação com os controles negativo L929 e positivo meio com 10% de DMSO.	59
Figura 32. Imagens de microscopia ótica das células L929 após 72 horas em contato com os hidrogéis. Aumento: 100X Barra de escala: 100 µm.	60
Figura 33. Espectro do RMN dos hidrogéis APMA5-NIPAm95 e APMA10-NIPAm90	71
Figura 34. Espectro de FR-TR dos hidrogéis AM1-APMA1-NIPAm1, AM1-APMA1-NIPAm2, AM1-APMA1-NIPAm4, AM1-APMA2-NIPAm1 e AM1-APMA4-NIPAm1	71
Figura 35. Figura 19. Curvas de DSC dos hidrogéis de copolímeros APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. pH em vários órgãos e grupos celulares no corpo humano ⁴²	16
Tabela 2. Proporções molares entre os monômeros nos hidrogéis de terpolímeros sintetizados.	24
Tabela 3. Proporção em porcentagem molar entre os monômeros dos hidrogéis de copolímeros sintetizados	24
Tabela 4. Rendimento das reações de síntese dos hidrogéis.	34
Tabela 5. Porcentagem de cada monômero presente nos hidrogéis de copolímero.	41
Tabela 6. Temperaturas de transição vítrea dos hidrogéis secos.....	47
Tabela 7. Temperatura de transição dos hidrogéis de terpolímeros	51
Tabela 8. Temperatura de Transição do Hidrogéis de Copolímeros.....	53
Tabela 9. Variações no GI na faixa de pH de 2,2 a 4,0 e quantidades de monômero APMA em cada amostra.	56
Tabela 10. Viabilidade celular das células em contato com os hidrogéis, controle negativo e positivo.	58

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido acrílico
AM	Acrilamida
APMA	N-(3-aminopropil) metacrilamida
BMA	Metacrilato de butila
DDS	Drug Delivery Systems
DMAAm	Dimetilacrilamida
DMAEM	N,N'-dimetilaminoetilmetacrilato
DMAEMA	Dimetilaminoetil metacrilato
DMSO	Dimetilsulfóxido
GI	Grau de inchamento
LCST	<i>Lower critical solution temperature</i>
MPC	Poli(2-metacriloxietil fosforilcolina)
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio
NIPAm	N-isopropilacrilamida
OpePOSS	Octa(propilglicidil éter)
PAA	Poli(ácido acrílico)
PAM	Poliacrilamida
PB	Peróxido de benzoíla
PDMAEM	Poli(N,N'-dietilaminoetil metacrilato)
PDMAEMA	Poli(N,N'-dimetilaminoetil metacrilato)
PEG	Poli(etileno glicol)
PEO	Poli(óxido de etileno)
PLA	Poli(ácido lactico)
PMA	Poli(ácido metacrílico)
T_g	Temperatura de Transição Vítrea
THF	Tetraidrofurano
TMSPMA	(trimetoxisilil)propilmetacrilato
TPP	Placa de cultura de tecido
UCST	<i>Upper critical solution temperature</i>
VCL	N-vinilcaprolactama

RESUMO

O presente trabalho apresenta a síntese e caracterização de hidrogéis híbridos pH e termo sensíveis baseados em acrilamida, N-isopropilacrilamida e N-(3-aminopropil) metacrilamida utilizando metacril POSS como reticulante. A síntese foi realizada através da polimerização radicalar dos monômeros em solução na presença do reticulante. Através das técnicas de FT-IR, RMN-¹H e TGA foi comprovada a incorporação dos três monômeros e do reticulante no hidrogel final. Foram realizados testes de grau de inchamento em função do pH e da temperatura, os quais mostram que os hidrogéis híbridos apresentam a sensibilidade às variações de temperatura e pH. As variações no grau de inchamento chegaram a 2542% com as mudanças no pH e 526% com as mudanças de temperatura. A avaliação da citotoxicidade dos materiais obtidos mostrou que eles apresentam citotoxicidade em maior e menor grau, dependendo da sua composição e do solvente utilizado na síntese.

ABSTRACT

The following work presents the synthesis and characterization of hybrid pH and thermo sensitive hydrogels based on acrylamide, N-isopropylacrylamide and N-(3-aminopropyl) methacrylamide methacryl using POSS as cross-linker. The synthesis was carried out by free-radical solution polymerization of the monomers in the presence of the crosslinker. By using FT-IR, ¹H NMR and TGA it was confirmed the incorporation of all three monomers and the crosslinker in the final hydrogel. The hybrid hydrogels showed thermo and pH-sensitive swelling behavior, reaching a variation of up to 2542% with pH changes and 526% with temperature changes. The obtained materials exhibited cytotoxicity at higher and lower levels, depending on the composition of the hydrogel as well as the reaction medium.

1 INTRODUÇÃO

O número de publicações encontradas utilizando a palavra “hidrogel” vem crescendo exponencialmente nas últimas três décadas. De acordo com o SciFinder® a primeira referência sobre hidrogel data de 1894 e vem crescendo anualmente desde 1960. Figura 1 mostra a evolução no número de citações contendo a palavra “hydrogel” na última década.

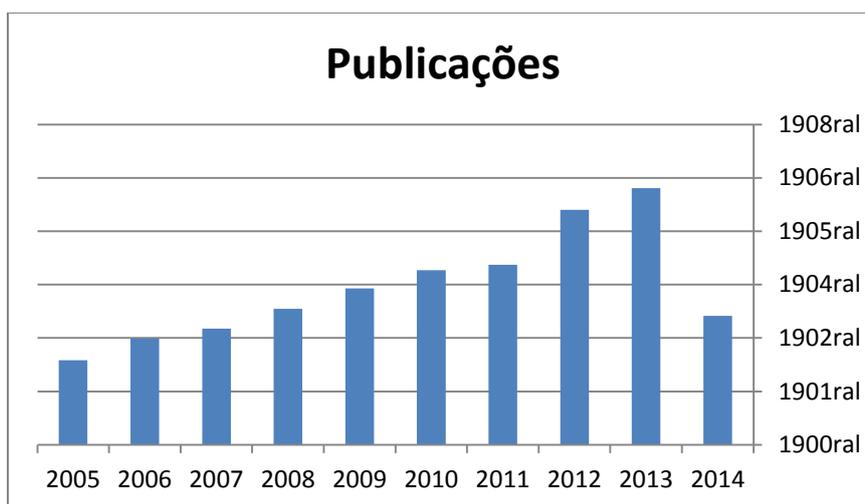


Figura 1. Número de publicações da última década contendo a palavra “hydrogel”. Fonte: SciFinder® 25/06/2014.

Grande parte das publicações na área de hidrogéis se refere ao desenvolvimento de sistemas de liberação controlada, principalmente quando baseados em hidrogéis capazes de responder a estímulos externos como, por exemplo, variações de temperatura, pH, força iônica do meio e natureza dos contraíons¹. Esses sistemas são conhecidos como hidrogéis inteligentes e são pensados para liberar substâncias a uma taxa controlada por um dado período de tempo respondendo a uma mudança no meio fisiológico. Esses sistemas são utilizados para superar os problemas das formulações convencionais, como as altas doses necessárias para atingir o nível mínimo efetivo da substância, que irá durar por um curto período de tempo sendo necessária então outra dose².

A grande maioria dos sistemas desenvolvidos se baseia em monômeros sensíveis ao pH e/ou a temperatura. A N-isopropilacrilamida (NIPAm) e seus derivados, por exemplo, têm características de expansão e de encolhimento com as variações de temperatura do meio que podem ser utilizados como sistemas que apresentam um mecanismo “on-off” na liberação controlada de substâncias. Kim³ indicou as vantagens do uso desse mecanismo em sistemas

autorreguladores para liberação de fármacos no organismo, e levou muitos outros pesquisadores a estudar esses sistemas¹.

O NIPAm é o monômero mais utilizado na produção de hidrogéis termossensíveis, pois apresenta uma temperatura de transição próxima à temperatura fisiológica e não apresenta citotoxicidade. Entretanto suas propriedades mecânicas deixam a desejar, o que dificulta sua aplicação prática. Para contornar esse problema e ajustar sua temperatura de transição o NIPAm é comumente copolimerizado com outros monômeros como a acrilamida e o metacrilato de butila^{2,4}.

Hidrogéis que apresentam sensibilidade ao pH do meio possuem grupos ionizáveis em sua composição. Como exemplos desses monômeros podemos citar o ácido acrílico, o metacrilato de metila e o N,N'-dietilaminoetil metacrilato^{2, 5}. Apesar de não haver trabalhos na literatura que utilizem o hidrocloreto de N-(3-aminopropil) metacrilamida (APMA) na produção de hidrogéis, a presença de uma amina na sua cadeia lateral o qualifica como potencial candidato para tal aplicação.

Ainda com o objetivo de sintetizar hidrogéis com melhores propriedades mecânicas, assim como térmicas e de difusão, alguns trabalhos vêm sendo realizados utilizando moléculas híbridas na produção de hidrogéis responsivos⁶⁻⁸. O metacril POSS é uma molécula particularmente interessante, pois suas cadeias laterais apresentam ligações duplas terminais que podem ser utilizadas em copolimerizações radiculares. Devido à presença de oito desses substituintes sua utilização leva à formação de uma rede tridimensional que no caso do uso de comonômeros hidrofílicos, como os citados anteriormente, levam a formação de um hidrogel.

A produção de hidrogéis que combinem essas duas propriedades pode ser obtida através da copolimerização de um monômero termossensível com um monômero pH sensível. Portanto a copolimerização do NIPAm, da acrilamida e do APMA é capaz de nos fornecer um material com alta resistência e que seja responsivo tanto ao pH como à temperatura do meio.

Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo sintetizar hidrogéis baseados nos monômeros acrilamida, NIPAm e APMA, utilizando o metacril POSS como agente reticulante. Os hidrogéis obtidos foram caracterizados quanto à sua estrutura química, propriedades térmicas, sensibilidade à temperatura e ao pH, além de seu potencial para uso biomédico através de testes de citotoxicidade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HIDROGÉIS

Hidrogéis são definidos como estruturas tridimensionais formadas por cadeias parcialmente hidrofílicas de homopolímeros, copolímeros ou macromônômeros interligadas, formando uma matriz insolúvel, a qual é capaz de absorver grandes quantidades de água mantendo sua estabilidade dimensional⁹. Suas propriedades químicas são determinadas pela cadeia polimérica, suas cadeias laterais e agentes reticulantes. As propriedades físicas, como resistência mecânica e grau de inchamento, dependem da densidade de reticulação.¹⁰

Estes materiais apresentam uma vasta gama de aplicações como, por exemplo, em cosméticos¹¹, na agricultura, na liberação gradual de água e nutrientes, em purificação de água, sensores¹² e na área médica, principalmente em lentes de contato, engenharia tecidual e liberação controlada de fármacos¹⁰.

O estudo de hidrogéis é uma área amplamente multidisciplinar, abrangendo ciência dos materiais, química, engenharia biomédica e ciências farmacêuticas.¹⁰ Nos últimos anos o interesse no uso desses materiais na área biomédica e farmacêutica vem aumentando devido ao alto teor de água em sua composição, natureza borrachosa, semelhante aos tecidos naturais, e sua biocompatibilidade.¹

2.1.1 Classificação dos Hidrogéis

Os hidrogéis podem ser classificados de acordo com diversas características. Em relação ao tipo de reticulações presentes na formação da estrutura tridimensional os hidrogéis (e géis de maneira geral) podem ser classificados como géis físicos, géis químicos ou géis antropológicos. Géis físicos são aqueles cuja rede tridimensional é formada por ligações de natureza eletrostática intermoleculares, como ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals.¹² Já os géis antropológicos são aqueles formados por emaranhamentos e domínios microcristalinos, sendo denominados também pseudogéis.^{9, 13, 14}

Baseado no método de preparação os hidrogéis são classificados como hidrogéis de homopolímeros, hidrogéis de copolímeros (podendo conter dois, três ou mais tipos de monômeros diferentes, onde ao menos um deles é hidrofílico) e hidrogéis poliméricos interpenetrantes. O último tipo é produzido sintetizando o hidrogel na presença de outro

hidrogel já formado. Eles podem também ser produzidos a partir de blendas através de ciclos de congelamento e descongelamento, até a formação de uma rede tridimensional interligada. Está técnica é conhecida como *freeze-thaw*.^{1, 9, 13}

De acordo com sua carga iônica os hidrogéis podem ser classificados como neutros, aniônicos, catiônicos e anfotéricos. Essa carga é determinada pelos grupos laterais contidos na cadeia principal do polímero ou copolímero. Hidrogéis com cadeias laterais que podem ser ionizadas são amplamente estudados para aplicação em liberação controlada de drogas e engenharia tecidual.^{1, 13}

Hidrogéis ainda podem ser classificados de acordo com sua fonte. Eles podem ser obtidos a partir de fontes naturais, como oligossacarídeos (quitosana, alginato, gelatina, pectina e agarose), peptídeos, proteínas e glicoconjugados (fibrina, actina e lectina). E podem também ser obtidos de fontes sintéticas, onde o poli(álcool vinílico), monômeros acrílicos e metacrílicos são os mais utilizados.¹⁰

A estrutura física do hidrogel depende dos monômeros ou macromonômeros iniciais, histórico de cargas mecânicas e dos métodos de síntese, como por exemplo, concentração dos monômeros, tipo e quantidade de reticulante, tipo e quantidade de iniciador e presença ou não de cargas inorgânicas^{9, 12}. Podendo apresentar morfologia amorfa, semicristalina, supramolecular, constituída por agregados hidrocoloidais ou estrutura baseada em ligações de hidrogênio.¹³

2.1.2 Água em Hidrogéis

A grande capacidade de absorver água dos hidrogéis é um fator determinante para suas aplicações posteriores. A presença da água reduz a energia livre interfacial em ambiente fisiológico aumentando sua biocompatibilidade e a quantidade final de água absorvida é dependente de fatores cinéticos e termodinâmicos^{15, 16}.

A água em hidrogéis é dividida em duas classes, água ligada e água livre. Quando um hidrogel começa a absorver moléculas de água, as primeiras moléculas a penetrarem na estrutura podem hidratar os grupos mais hidrofílicos, sendo chamada de “água de ligação primária”. Quando esses grupos hidrofílicos já estão hidratados a rede polimérica incha e expõe os grupos hidrofóbicos, os quais irão interagir com a água. Essa água recebe o nome de “água de ligação secundária”. Ambas juntas são chamadas de “água total de ligação”. Após os

grupos, hidrofílicos e hidrofóbicos, estarem interagindo com moléculas de água a rede absorve mais água devido às forças osmóticas que vão em direção à diluição infinita. As ligações cruzadas resistem a esse inchamento adicional resultando numa força de reação elástica da rede polimérica. Dessa forma os hidrogéis atingem um equilíbrio de intumescimento. A água adicional que entra no gel após os grupos pertencentes às cadeias estarem hidratados é chamada de água livre ou água de “*bulk*”.¹²

2.2 ASPECTOS TERMODINÂMICOS DOS HIDROGÉIS

Sabe-se que Flory e Rehner desenvolveram uma descrição inicial do inchamento de hidrogéis utilizando uma distribuição Gaussiana das cadeias dos polímeros. Eles desenvolveram um modelo para descrever o equilíbrio de polímeros reticulados postulando que o grau de inchamento de uma rede polimérica é governado pelas forças de retração elástica das cadeias do polímero e pela afinidade entre o polímero e as moléculas de solvente¹⁷.

Termodinamicamente falando, a expansão volumétrica do gel quando em contato com um solvente é resultado de uma variação de energia livre (ΔG). Essa variação é regida por dois termos, o termo de mistura ($\Delta G_{mistura}$) e o termo elástico ($\Delta G_{elástico}$), relacionados, respectivamente, à compatibilidade gel-solvente e à forças de retração das cadeias citadas anteriormente. Assim temos:

$$\Delta G = \Delta G_{elástico} + \Delta G_{mistura} \quad (2.1)$$

No processo de inchamento de um gel seu volume aumenta até atingir o equilíbrio. O fato de o gel absorver o solvente é uma tentativa de igualar os potenciais químicos dentro e fora do mesmo. Esse processo leva a uma variação negativa do termo de mistura. Porém, ao absorver o solvente o gel expande, o que imprime tensões à rede polimérica, levando a uma variação positiva do termo elástico. Dessa forma, o equilíbrio se dará quando as variações desses dois termos se igualarem, levando a um $\Delta G=0$ ¹⁸.

No caso de polieletrólitos o pH e a força iônica do solvente irão contribuir para a expansão ou contração do gel. Portanto, é necessário levar em conta a contribuição da parte iônica, o que nos dá um terceiro termo na equação da energia livre¹⁷.

$$\Delta G = \Delta G_{elástico} + \Delta G_{mistura} + \Delta G_{iônico} \quad (2.2)$$

2.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE DROGAS

Sistemas de liberação controlada de fármacos ou DDS (do inglês *Drug Delivery Systems*) são, idealmente, concebidos como sistemas que são capazes de liberar um agente farmacologicamente ativo a um ponto específico do organismo, de maneira que seja possível planejar essa liberação. Ou seja, é necessário que esse sistema seja previsível e reprodutível. Nessa concepção, a obtenção de um nível constante de liberação para o organismo é altamente desejada.

As formas convencionais de administração de fármacos permitem que a substância entre em contato com seu ponto alvo, entretanto por um curto período de tempo, de forma que várias doses dessas substâncias são necessárias. Dessa maneira temos altas concentrações do fármaco na corrente sanguínea no período após administração, as quais são reduzidas drasticamente após um curto período de tempo, relacionado com o tempo de meia vida do fármaco no organismo¹⁹.

A concentração dessas substâncias no sangue deve sempre ser mantida abaixo do nível tóxico ao organismo e acima do nível em que a mesma é efetiva. Essa faixa de concentração é conhecida como nível terapêutico e está mostrada de forma esquemática na Figura 2. As curvas farmacocinéticas ilustram a administração do fármaco por meios convencionais e através da utilização de DDS, onde vemos que os sistemas de liberação controlada mantêm a concentração dentro do nível terapêutico²⁰.

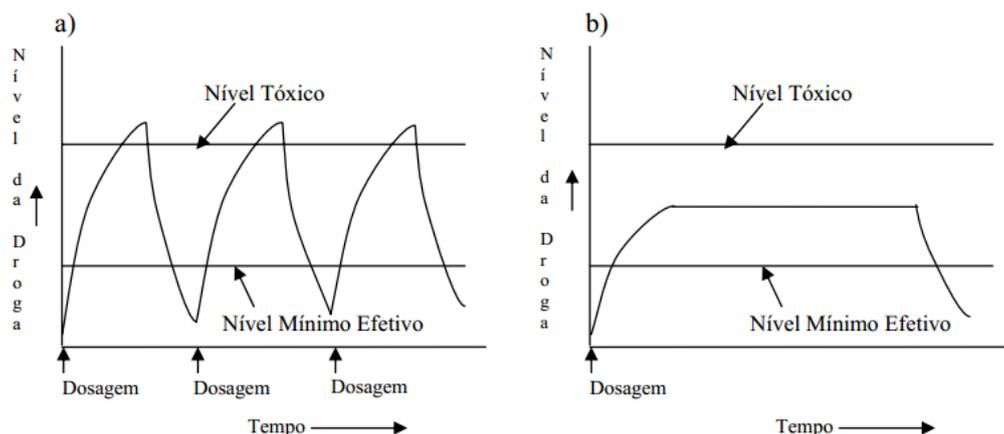


Figura 2. Representação esquemática das curvas farmacocinéticas para (a) meio tradicional de administração e (b) através de DDS. Adaptado de Silva¹⁸.

Essa vantagem traz consigo a diminuição do tempo de tratamento farmacológico, já que a dose do fármaco no local desejado será constante por mais tempo. Outras vantagens ainda são a possibilidade de direcionamento do fármaco a pontos específicos do organismo, a proteção do agente ativo contra as condições severas do organismo assim como de enzimas. Alguns desses sistemas podem ainda servir de facilitadores da absorção do fármaco através de mucosas e células¹⁸.

O melhoramento contínuo e a aceleração da pesquisa e desenvolvimento de materiais poliméricos teve um grande reflexo no uso desses materiais em sistemas de liberação controlada. Os sistemas poliméricos disponíveis para DDS podem ser classificados de acordo com seus mecanismos de liberação em quatro grandes categorias: Sistemas (1) controlados por difusão, (2) controlados pela penetração de água, (3) controlados quimicamente e (4) controlados magneticamente²¹.

Mecanismos controlados por difusão têm dois tipos de dispositivos fundamentais, que são os dispositivos monolíticos e os controlados por membrana. Em dispositivos monolíticos o fármaco é disperso em uma matriz polimérica e sua difusão irá depender da solubilidade da substância na matriz, podendo essa estar abaixo do seu limite de solubilidade ou acima dele, contanto que esteja uniformemente disperso na matriz. No caso de dispositivos controlados por membrana o fármaco está contido num compartimento envolto por uma membrana polimérica que controla sua difusão para o ambiente.

Quando a taxa de liberação é controlada pela penetração de água na matriz o dispositivo pode ser do tipo bomba osmótica ou controlada pela expansão da matriz. Nos dispositivos por bomba osmótica o agente osmótico está contido dentro de uma câmara rígida e separado do fármaco por uma partição móvel, onde um dos lados do compartimento rígido é uma membrana semipermeável. Quando imerso em solução aquosa a água entra no dispositivo através da membrana aumentando seu volume, o que irá exercer uma pressão sobre a parte móvel expulsando o agente ativo. Nos dispositivos controlados pela expansão do polímero o fármaco é disperso em uma matriz reticulada hidrofílica seca. Quando em contato com água a matriz expande e a substância é expelida.

Em sistemas controlados quimicamente o fármaco é liberado devido a degradação do polímero no interior do corpo do paciente. Nesse caso é necessário o uso de polímeros biodegradáveis, que serão degradados por enzimas, hidrólise ou outras reações químicas.

Sistemas controlados magneticamente, formados por albumina e microesferas magnéticas, são, teoricamente, capazes de melhorar a especificidade da localização da liberação. Esses vêm sendo amplamente estudados para o uso no tratamento de cânceres²².

Para a aplicação de um dado dispositivo é muito importante saber qual o mecanismo de liberação dominante, uma vez que se pode prever como esse dispositivo irá se comportar em diferentes meios, o que traz maior segurança e eficácia. Portanto é necessário conhecer os fenômenos que influenciam nessa transferência de massa, como o formato geométrico do gel, o meio em que se encontra e o tamanho do soluto. Para tanto alguns modelos matemáticos tem sido criados para prever o comportamento de um dado sistema²³.

O mecanismo mais estudado para DDS é o da difusão do soluto através do meio. Nesse caso a difusão é a etapa limitante do processo, ou seja, será a difusão que irá determinar a velocidade de liberação. A lei que rege a difusão é a lei de Fick, onde o fluxo difusivo (J) de um soluto é definido como a quantidade de soluto que passa através de um plano de referência por unidade de tempo e por unidade de área normal à direção do fluxo.

Para estado estacionário, ou seja, independente do tempo, J pode ser determinado pela Equação 2.3

$$J = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (2.3)$$

Onde D é o coeficiente de difusão do soluto no meio, C é a concentração e de x é a distância. Dessa forma o termo $\frac{\partial C}{\partial x}$ representa a força motriz para que o processo de difusão ocorra espontaneamente. O coeficiente D representa a facilidade para que essa difusão ocorra e é dependente do soluto em um meio específico.

O conhecimento do coeficiente de difusão é de extrema importância no cálculo de difusão e no perfil de concentração do soluto no meio. Ele é, geralmente, determinado experimentalmente porque não há, até o momento, uma teoria geral que permite que seja estimado com precisão.

O coeficiente de difusão pode ser dependente do tempo e para esses casos é necessário o uso da segunda lei de Fick, mostrada na Equação 2.4.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial(D \frac{\partial C}{\partial x})}{\partial x} \quad (2.4)$$

Todos os modelos utilizados para descrever a difusão de solutos a partir de matrizes poliméricas são baseados nessas duas equações. A complexidade do modelo vai depender se a difusão será considerada uni, bi ou tridimensional e da geometria adotada no modelo (plana, cilíndrica, esférica, etc). Além do estado físico do polímero em questão, podendo o mesmo estar acima ou abaixo da temperatura de transição vítrea (T_g)¹⁸.

A importância da T_g se dá pelo fato de que polímeros acima de sua T_g respondem mais rapidamente a mudanças em sua estrutura física do que polímeros no estado vítreo, uma vez que a mobilidade das cadeias é muito restrita no estado vítreo. Do ponto de vista de modelagem matemática, polímeros no estado vítreo não irão apresentar um comportamento previsto pela lei de Fick, sendo necessários modelos mais complexos^{17, 24}.

2.4 HIDROGÉIS RESPONSÍVOS

Desde que Tanaka²⁵, em 1978, reportou pela primeira vez a ocorrência de uma transição de fase que causava grandes variações de volume em hidrogéis, muitos trabalhos passaram a investigar esse fenômeno. Até 1984 sabia-se da existência de transição de fase em hidrogéis iônicos, uma vez que as cadeias laterais desses materiais, quando ionizadas,

respondiam a estímulos externos, não apenas de pH, mas de temperatura, composição de solventes e força iônica. Porém nesse mesmo ano Hirokawa e Tanaka²⁶ reportaram pela primeira a existência de transição de fase em um hidrogel não iônico. Esse hidrogel era formado pela N-isopropilacrilamida (NIPAm) e apresentou transição de fase com a mudança da temperatura.

Hidrogéis podem apresentar mudanças em seu comportamento de inchamento em resposta a vários estímulos, como mudanças na força iônica do meio, no pH, na temperatura, radiação eletromagnética¹⁷, entre outros, conforme ilustrado na Figura 3. Alguns hidrogéis apresentam transições de fase em resposta a estímulos externos de grande interesse. Katakoa et al. sintetizaram um hidrogel baseado em NIPAm e ácido N-acrilóil-3-amino fenilborônico que apresenta um comportamento de transição de fase com mudanças na concentração de glicose do meio²⁷. Ishihara et al. recentemente reportaram que hidrogéis derivados de poli (2-metacrilóiloxietil forforilcolina) (MPC) apresenta uma transição de fase conhecida como reentrância. Trata-se de hidrogéis que apresentam altos graus de inchamento em dois solventes diferentes, mas encolhem na presença de misturas dos mesmos solventes em certas proporções²⁸.

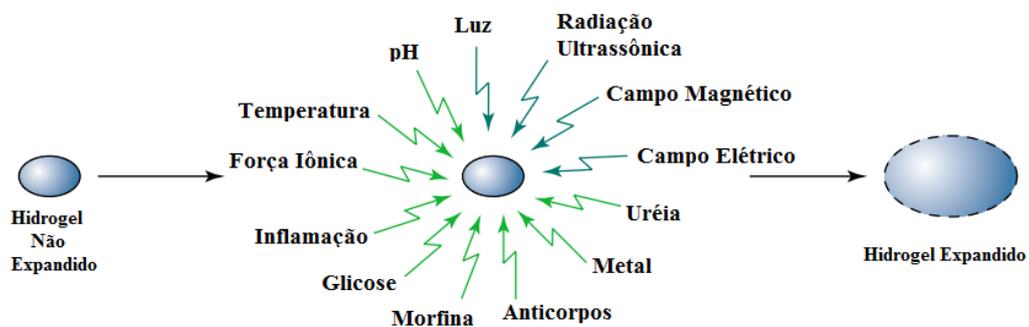


Figura 3. Representação esquemática da expansão de um hidrogel em resposta a estímulos externos. Adaptado de Gupta⁵.

Hidrogéis que possuam essas características de responsividade são excelentes candidatos a serem usados no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de drogas e fármacos. Na última década, principalmente, nos últimos três anos houve muitos avanços no desenvolvimento de sistemas de liberação de drogas baseados em hidrogéis. Os hidrogéis com transição de fase mais estudados nos dias de hoje são os hidrogéis sensíveis às mudanças na

temperatura e no pH do meio, principalmente quando essas transições ocorrem próximas a temperatura e/ou pHs fisiológicos¹⁰.

2.4.1 Hidrogéis Termossensíveis

Os hidrogéis que apresentam essa transição de fase em função da temperatura são chamados de hidrogéis termossensíveis. Eles apresentam uma grande variação de volume para pequenas variações desse parâmetro. Para que um hidrogel tenha essa propriedade ao menos um de seus componentes deve apresentar uma mudança de solubilidade associada à temperatura. Esse gel deverá então ser insolúvel acima ou abaixo de uma determinada temperatura. Sendo dessa forma classificado como um sistema de temperatura crítica inferior (LCST - *lower critical solution temperature*) ou superior (UCST – *upper critical solution temperature*), respectivamente¹⁸.

Em temperaturas abaixo da temperatura crítica os hidrogéis com comportamento de fase LCST apresentam apenas uma fase. Nessa condição as ligações de hidrogênio formadas entre os segmentos hidrofílicos e as moléculas de água são dominantes, de forma a facilitar o inchamento. Com o aumento da temperatura acima da temperatura crítica essas interações entre os grupamentos hidrofóbicos aumentam em detrimento das ligações de hidrogênio, levando a um rearranjo das moléculas e conseqüentemente a um estado no qual as interações entre solvente e polímero deixam de ser favoráveis. Nesse estado as fortes interações hidrofóbicas acabam por expulsar a água contida no interior do gel¹⁸. Uma vez que essa transição de fase é baseada em interações eletrostáticas e conformações de cadeias, ela é completamente reversível²⁹.

Para que um polímero apresente essa propriedade é necessário que ele apresente grupamentos hidrofóbicos como metilas, etilas ou propilas². Os hidrogéis mais interessantes para estudos são os formados pelos monômeros NIPAm e pela N-vinilcaprolactama (VCL), os quais têm suas estruturas químicas mostradas na Figura 4. Ambos apresentam transição de fase do tipo LCST em temperaturas próximas a 32 °C (relativamente próxima à temperatura corpórea, que é de 37 °C) e seus polímeros não apresentam citotoxicidade³⁰. Essa temperatura de transição pode variar de acordo com a composição do hidrogel (presença de comonômeros e diferentes agentes reticulantes), da composição do meio e de seu grau de reticulação¹⁰. A introdução de comonômeros hidrofílicos desloca a LCST para temperaturas maiores e a

introdução de grupos hidrofóbicos tem o efeito oposto. Dessa forma, é possível haver certo controle nesse aspecto, dependendo da aplicação desejada².

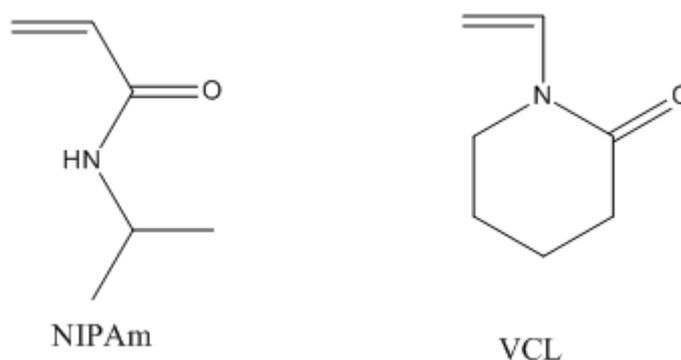


Figura 4. Exemplo de monômeros que formam hidrogéis com transição de fase dependente da temperatura: N-isopropilacrilamida e N-vinilcaprolactama.

Na classe dos hidrogéis responsivos os termossensíveis são os mais estudados para sistemas de liberação controlada de drogas, com um grande destaque para os hidrogéis baseados em NIPAm. O NIPAm é uma acrilamida modificada que contém um grupo isopropil, conforme é possível ver na Figura 4. Esse é o grupamento que fornece a característica de mudança de fase em função da temperatura, conforme discutido anteriormente. Como sistema de liberação controlada de droga o hidrogel baseado em NIPAm funciona como um sistema *on-off*. Quando a baixas temperaturas (abaixo da temperatura de transição) o sistema se encontra na sua forma “*on*”, que é quando o hidrogel está expandindo e permite a saída do fármaco contido no seu interior. Quando a temperatura ultrapassa a temperatura crítica temos o estado “*off*” que é quando o hidrogel está numa conformação mais densa e sua superfície está menos permeável².

Apesar de seu alto potencial como biomaterial, o hidrogel de NIPAm apresenta uma baixa resistência mecânica, devido a baixa elasticidade que faz o que o material fique quebradiço. Isso pode ser um problema quando ele sofre forte cisalhamento até chegar no local apropriado para a liberação da droga. Por esse motivo ele é comumente copolimerizado com outros polímeros capazes melhorar essa propriedade. O monômero mais comumente utilizado para tal finalidade é o metacrilato de butila (BMA) e a acrilamida (AM)^{2, 4, 31-33}.

Podemos citar a ainda a copolimerização do NIPAm com dimetilacrilamida (DMAAm), onde os copolímeros resultantes apresentaram LCST de 40 °C. O mesmo foi

utilizado em estudo para tratamentos antitumorais, pela incorporação do fármaco Doxorubicina³⁴.

Ainda com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas do poli(N-isopropilacrilamida), Hebeish et al.³⁵, sintetizaram o hidrogel na presença de nanocristais de celulose, ou *nanowhiskers*, formando uma rede interpenetrante, de forma a ter os nanocristais como reforços ao longo da rede do hidrogel. Os hidrogéis obtidos apresentaram uma temperatura de transição de 32 °C.

Coughlan^{36, 37} e colaboradores estudaram a cinética de liberação de fármacos de hidrogéis de PNIPAm em função das propriedades físico-químicas dos fármacos utilizados. Os mesmos perceberam que a presença de fármacos hidrofóbicos diminui o grau de expansão do gel e que quando essas substâncias são hidrofílicas a grau de expansão aumenta e que as interações fármaco-polímero interferem fortemente na cinética de liberação, o que é esperado para um processo regido por difusão.

Hidrogéis termossensíveis podem, ainda, ser colocados dentro de cápsulas rígidas contendo orifícios. Esse tipo de dispositivo é chamado de “*squeezing hydrogel*” porque a taxa de liberação é afetada pelas variações nas dimensões do hidrogel. Eles podem ainda ser introduzidos em matrizes rígidas ou serem enxertados em superfícies de membranas rígidas². Uma membrana de compósito foi produzida dispersando micropartículas de hidrogel de PNIPAm em uma matriz de gelatina reticulada. Foi feito um estudo da liberação de uma droga modelo que se mostrou dependente do grau de inchamento das partículas de hidrogel e consequentemente da temperatura³⁸.

Cao et al.³³, sintetizaram microgéis híbridos baseados em NIPAm, AM e (trimetoxisilil)propilmetacrilato (TMSPMA). Inicialmente foi obtido um terpolímero por polimerização radicalar, em seguida o terpolímero foi colocado em solução aquosa, a qual foi aquecida acima da temperatura de transição de fase. Nesse processo houve a hidrólise do grupo Si-O-CH₃, formando Si-(OH)₃ seguido de condensação, formando assim as esferas de microgel. Os autores perceberam que o diâmetro dos hidrogéis era fortemente dependente da temperatura e pH do meio. A temperatura de transição do material foi de 34 °C.

Xu et al.³⁹, sintetizaram copolímeros de NIPAm e AM em bloco com poli(ácido láctico) (PLA) e perceberam que os mesmo se reorganizam em micelas esferas nanométricas,

nas quais encapsularam diferentes fármacos. Esses agregados se mostram sensíveis à temperatura, composição do meio e ao tipo de fármaco utilizado, além de não apresentarem citotoxicidade.

Wang³² e colaboradores sintetizaram um hidrogel termo e opticamente responsivo baseado em NIPAm e AM no qual eles imobilizaram nanopartículas de carbono fluorescentes. O objetivo foi obter um material que respondesse a variações tanto térmicas quanto de luz próxima ao infravermelho para identificar células cancerígenas.

2.4.2 Hidrogéis Sensíveis ao pH

Hidrogéis que apresentam inchamento dependente do pH do meio são formados por polímeros que apresentam cadeias laterais que contêm grupamentos ácidos ou básicos que são capazes de se ionizar com mudanças na acidez do meio. Hidrogéis com grupamentos ácidos são ionizados quando o pH do meio está acima do pK_a do grupo ionizável. Já hidrogéis catiônicos, que geralmente apresentam grupos laterais aminas, se ionizam quando o pH do meio está abaixo do seu pK_b ¹⁷.

O processo de ionização de polieletrólitos é semelhante à ionização de espécies monoácidas e monobásicas. Entretanto, os efeitos eletrostáticos exercidos pelos grupos adjacentes torna essa ionização mais difícil, o que faz com que tenhamos uma constante de ionização aparente para esses materiais¹⁸. O grau de expansão e responsividade ao pH podem ser ajustadas utilizando comonômeros neutros, como, por exemplo, 2-hidróxiethylmetacrilato, metilmetacrilato e anidrido maleico. Diferentes comonômeros promovem hidrofiliidade diferentes, levando a diferentes comportamentos em função ao pH^2 .

Conforme aumenta o grau de ionização também aumenta a repulsão eletrostática entre as cadeias laterais e conseqüentemente sua hidrofiliidade, dessa forma a capacidade do material de absorver água. Esse é um processo reversível e, portanto, com a variação do pH ao ponto em que as cadeias laterais não estão mais ionizadas a hidrofiliidade volta a diminuir e parte da água é novamente expulsa do interior do gel. O grau de inchamento de hidrogéis iônicos depende também do equilíbrio iônico e a natureza do contraíon¹⁷.

Hidrogéis de poli(ácido metacrílico) (PMA) enxertado com poli(etileno glicol) (PEG) têm propriedades de inchamento únicas. Em pH baixo, os prótons do ácido metacrílico interagem com o oxigênio do grupamento éter do PEG através de ligação de hidrogênio

resultando em um encolhimento do hidrogel. Quando os grupamentos carboxílicos do PMA são ionizados a pHs altos as ligações de hidrogênio se desfazem, levando a um inchamento do hidrogel⁴⁰. O mesmo princípio pode ser aplicado a redes interpenetrantes formadas por dois polímeros diferentes que interagem por ligações de hidrogênio em função do pH².

Devido a essas características de mudanças no grau de inchamento com as mudanças de pH e força iônica os hidrogéis iônicos são de grande interesse no estudo de sistemas de liberação controlada de drogas, uma vez que existem diferentes valores de pH em diferentes partes do corpo, conforme mostrado na Tabela 1. Sabe-se que o fluido intersticial de alguns tumores ou inflamações em humanos e animais tem um pH consideravelmente menor do que tecidos normais e que esses valores de pH mudam de lugar para lugar no trato intestinal. Dessa forma, sistemas de liberação de drogas que respondem aos diferentes pHs são capazes de atingir áreas específicas do corpo, como tumores, inflamações e infecções⁴¹.

Tabela 1. pH em vários órgãos e grupos celulares no corpo humano⁴².

Tecido/Grupo Celular	pH
Sangue	7,35 – 7,45
Estômago	1,0 – 3,0
Duodeno	4,8 – 8,2
Cólon	7,0 - 7,5
Endosomo Precoce	6,0 – 6,5
Endosomo Maduro	5,0 – 6,0
Lisossomo	4,5 – 5,0
Complexo de Golgi	6,4
Tumor	7,2 – 6,5

Os polímeros aniônicos típicos para esse tipo de aplicação são o poli(ácido acrílico) (PAA) e o PMA. Como exemplo de polímeros catiônicos utilizados temos o poli(N,N'-dietilaminoetil metacrilato) (PDMAEM), poli(dimetilaminoetil metacrilato) (PDMAEMA), quitosana e poliacrilamida (PAM)⁵.

Hidrogéis sensíveis ao pH são usados mais frequentemente em sistemas de liberação controlada de uso oral. O pH do estômago (<3) muito diferente do pH neutro do intestino, o

que é suficiente para induzir um comportamento dependente do pH em hidrogéis de polieletrólitos. Para hidrogéis catiônicos o inchamento é mínimo no pH neutro do intestino, o que minimiza a taxa de liberação do hidrogel. Essa propriedade tem sido usada para impedir a liberação de drogas com sabores desagradáveis ao paladar, onde o pH também é neutro². Quando cafeína, por exemplo, foi colocada em hidrogéis de copolímeros de metil metacrilato e N,N'-dimetilaminoetilmetacrilato (DMAEM) ela não foi liberada em pH neutro, mas em pH da ordem de 3, onde o DMAEM fica ionizado, ela foi liberada com uma cinética de ordem zero⁴³. Hidrogéis catiônicos formados por semi-IPN também tem sido usados para liberação de fármacos no estômago. Os hidrogéis formados por quitosana reticulada e poli(óxido de etileno) (PEO) apresentam maior grau de inchamento no pH do estômago. Esse tipo de hidrogel seria ideal para liberação localizada de antibióticos, como amoxicilina e metronidazol, para tratamento de *Helicobacter pylori*⁴⁴.

Xue et al.⁴⁵ desenvolveram um hidrogel híbrido fisicamente reticulado e pH responsivo a partir de gelatina e siloxano, a fim de melhorar sua resistência mecânica. Os resultados mostraram que a quantidade de siloxano presente tem efeitos importantes na estrutura e propriedades do hidrogel formado. Os hidrogéis já com quantidades de siloxano otimizadas apresentaram alta elasticidade quando comprimido (3,6 MPa, com deformação de 86% contendo 85% em massa de água).

Hidrogéis feitos de PAA e PMA podem ser utilizados para liberação em pH neutro. Hidrogéis de poliânions, como o PAA, reticulado com reticulantes azoaromáticos foram desenvolvidos para liberação específica no cólon. A expansão desses materiais no estômago é mínima e, portanto, assim também a liberação. O aumento do inchamento ocorre quando o hidrogel atinge o intestino, onde ocorre a ionização dos grupamentos ácidos. Porém, somente no cólon as reticulações de grupos azoaromáticos podem ser degradadas por azoredutores produzidos pela flora intestinal do cólon. A cinética de degradação pode ser controlada pela densidade de ligações cruzadas e a cinética de inchamento pelo número de grupos ionizáveis^{46,47}.

Alguns hidrogéis pH sensíveis podem ser colocados dentro de cápsulas ou matrizes de silicone para modular a liberação do fármaco. Em matrizes de silicone foram utilizados hidrogéis feitos de semi-IPN de PAA e PEO. Foram estudados os padrões de liberação de vários fármacos modelos com diferentes solubilidades em água e diferentes coeficientes de partição. Em pH 1,2 o inchamento da rede é baixo e a liberação bastante restrita. Com o em

pH 6,8 a rede polimérica é ionizada e o aumento no inchamento leva a um aumento na liberação do fármaco^{48, 49}.

Qu et al.⁴¹ desenvolveram um sistema de liberação controlada por pH formado por dois tipos diferentes de polímeros. Um aniônico (PMA) e outro catiônico (PDMAEM). Esse sistema consiste em recipiente que contém um portão formado por um polímero linear reticulado e um hidrogel de comportamento oposto no interior. O sistema proposto deve apresentar resposta rápida às variações de pH. Quando o estímulo apropriado é dado o hidrogel que forma o portão irá contrair e o hidrogel do interior irá se intumescer e exercer um efeito de bombeamento do fármaco para fora do dispositivo. Quando o pH muda esse gel do interior contrai e o que forma portão se expande, de forma a fechar o portão não permitindo a saída do fármaco.

O Hidrocloreto de N-(3-aminopropil) metacrilamida (APMA) é um bom candidato a ser utilizado na síntese de hidrogéis pH sensíveis. Trata-se de um metacrilato que apresenta a estrutura mostrada na Figura 5, contendo uma cadeia lateral com uma amina primária na ponta, que é facilmente ionizável em valores de pH ácidos. Ele é um reagente amplamente utilizado na área biomédica, porém nenhuma referência do uso do mesmo na produção hidrogéis pH responsivos foi encontrada até o momento.

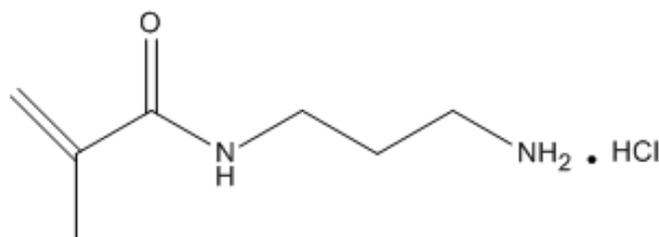


Figura 5. Estrutura química do monômero APMA.

Existem relatos de seu uso na produção de hidrogéis biodegradáveis para engenharia tecidual, onde ele foi utilizado como precursor do monômero sintetizado para a produção do hidrogel⁵⁰. Seu uso como potencial monômero para produção de hidrogéis pH sensíveis foi citado em uma patente que descreve a produção de hidrogéis reticulados por domínios proteicos⁵¹.

2.4.3 Hidrogéis Responsivos à Temperatura e ao pH

Para produzir um hidrogel sensível tanto ao pH como à temperatura basta incorporar monômeros termossensíveis e monômeros ionizáveis no mesmo hidrogel. Quando pequenas quantidades de um monômero aniônico, como ácido acrílico, são incorporadas em um polímero termossensível sua LCST passa a depender da ionização do grupo lateral ácido carboxílico, ou seja, do pH do meio. Quando o pH do meio é elevado acima do pK_a do polieletrólito a LCST é deslocada a temperaturas maiores devido ao aumento da hidrofiliabilidade e da repulsão de cargas².

Uma vez que pH e temperatura são fatores muito importantes em meios biológicos, inúmeros trabalhos vêm sendo realizados na produção de hidrogéis sensíveis a ambos os estímulos e no estudo do seu comportamento em relação à liberação de drogas. Os monômeros utilizados são, em sua grande maioria, o NIPAm e os monômeros aniônicos e catiônicos citados na seção anterior⁵²⁻⁵⁵.

Para hidrogéis produzidos a partir de copolímeros aleatórios a quantidade máxima de monômero ionizável aceitável no copolímero para que sejam mantidas suas características termossensíveis é de 10%. Quando uma quantidade maior que 10% do monômero aniônico ou catiônico é adicionada ao polímero a hidrofiliabilidade fornecida por esses monômeros é suficiente para estabilizar o hidrogel em solução, de forma que não haverá mais uma transição de fase com o aumento da temperatura⁵⁶.

Para contornar essa situação de perda na termossensibilidade e quando se deseja tornar a liberação da droga mais rápida e o tratamento mais eficiente, alguns autores preparam hidrogéis onde macro cadeias laterais termossensíveis são enxertadas em uma cadeia principal pH responsiva. Essas ramificações tem sua extremidade livre, podendo se movimentar com maior facilidade, facilitando a saída do fármaco do interior do hidrogel, tornando então a taxa de liberação mais alta. Esse tipo de polímero enxertado é chamado de *comb-type*, porque o polímero final tem a aparência de um pente. Vários comonômeros pH responsivos foram utilizados em conjunto com o NIPAm, como, por exemplo, ácido acrílico (AA), PEG e DMAEM⁵⁶⁻⁶³

Fundueanu⁵⁴ e colaboradores, sintetizaram terpolímeros de NIPAm, AM e aminoetilacrilamida (AEAM), os quais, conforme discutido anteriormente, perderem sua termossensibilidade devido ao ganho na hidrofiliabilidade. Entretanto, ao estudar a cinética de liberação do fármaco diclofenaco perceberam que o hidrogel readquiriu sua sensibilidade à

temperatura. Foi verificado que isso acontece porque há uma interação da carga positiva da amina do hidrogel com a carga negativa do diclofenaco. Por titulação potenciométrica foi visto que a sensibilidade térmica é restaurada quando 50% das cargas positivas são neutralizadas pelo fármaco.

Alguns polímeros naturais apresentam uma quantidade apreciável de grupos laterais que podem fornecer sensibilidade ao hidrogel. A mais estudada nesse aspecto é a quitosana. Cai et al.⁶⁴, sintetizaram um hidrogel responsivo ao pH e a temperatura enxertando NIPAm em quitosana através de radiação γ . Os hidrogéis gerados apresentaram boa resposta tanto ao pH como à temperatura, a LCST do sistema obtido foi de 28 °C. Outro exemplo de polímero natural utilizado na preparação de hidrogéis termo e pH sensíveis é o alginato, comumente de cálcio^{65, 66}.

Hidrogéis produzidos a partir de terpolímeros, cujos monômeros constituintes são o NIPAm, um macromonômero de polidimetilsiloxano terminado em uma ligação dupla e ácido acrílico foram utilizados na liberação controlada de indometacina e amilase. Esse hidrogel foi escolhido para a liberação de uma proteína (alta massa molecular) porque devido a um de seus monômeros formadores ser um macromonômero ele apresentou um tamanho de poro bastante elevado, o qual aumenta com o aumento da massa molar do macromonômero.^{2, 67}

2.4.4 Hidrogéis Híbridos

Como visto anteriormente muitos trabalhos foram realizados tentando melhorar as propriedades mecânicas dos hidrogéis e assim desenvolver materiais mais fáceis de trabalhar na prática. Uma das maneiras de se fazer isso é produzindo hidrogéis híbridos. Alguns trabalhos mencionados anteriormente, mostram o uso de nanocristais de celulose como reforço em hidrogéis de NIPAm³⁵ e o de moléculas híbridas contendo grupos siloxanos^{33, 67}. Existem também trabalhos que utilizam nanoargila como reforço em hidrogéis, os quais são preparados *in situ* por polimerização radicalar de seus monômeros na presença da carga⁶⁸.

Xue et al.⁴⁵ desenvolveram um hidrogel híbrido fisicamente reticulado de gelatina e siloxano. Os resultados mostraram que a quantidade de siloxano presente tem efeitos importantes na estrutura e propriedades do hidrogel formado. Os hidrogéis já com quantidades de siloxano otimizadas apresentaram alta elasticidade quando comprimido (3,6 MPa, com deformação de 86% contendo 85% em massa de água).

O oligômero de siloxano (POSS) é considerado a menor molécula híbrida contendo um núcleo cúbico de sílica com cadeias laterais orgânicas (grupos alquil, aril, metacril, entre outros). Hidrogéis híbridos baseados em POSS apresentam melhorias na resistência mecânica e em suas propriedades físicas, como altas temperaturas de decomposição, resistência à oxidação e a chama. O interesse dessas moléculas em aplicações biomédicas vem crescendo, uma vez que essas moléculas não apresentam citotoxicidade e são bioestáveis⁶⁹.

Mu e Zheng⁶, por exemplo, utilizaram octa(propilglicidil éter) POSS (OpePOSS) como reticulantes na preparação de hidrogéis de NIPAm, os quais apresentam uma resposta mais rápida a estímulos externos em relação aos hidrogéis reticulados com N,N'-metilenobisacrilamida. Wang et al.⁷ obtiveram nanofibras de hidrogel de NIPAm reticulados com o OpePOSS por *electrospinning*. Mu e colaboradores obtiveram uma rede interpenetrante de PEO com reticulação *in situ* também utilizando o OpePOSS. Recentemente Zang et al.⁸ publicaram um artigo onde produziram hidrogéis pH e termo responsivos baseados em NIPAm e DMAEMA usando o octavinil POSS como reticulante. Os hidrogéis foram obtidos por adição radicalar em solução e apresentaram boas propriedades térmicas, mecânicas, óticas e de inchamento. Além de também apresentarem uma maior taxa de liberação do fármaco do que os hidrogéis reticulados com BIS.

O metacril POSS, cuja estrutura química está mostrada na Figura 6 é um potencial candidato a ser utilizado como reticulante na produção de hidrogéis híbridos. Apesar de não terem sido encontrados relatos na literatura de seu uso para essa finalidade, ele apresenta ligações duplas nas extremidades das cadeias metacrilato, servindo dessa forma como monômero multifuncional no caso de uma polimerização por adição.

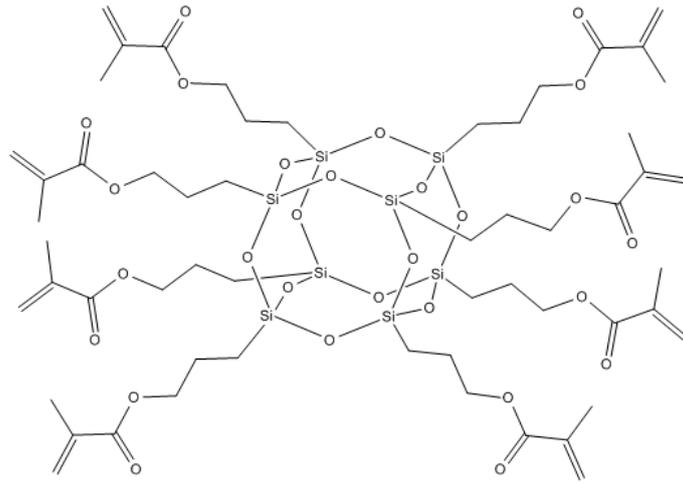


Figura 6. Estrutura química do metacril POSS.

3 OBJETIVOSQ

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver novos hidrogéis híbridos sensíveis a mudanças de temperatura e pH do meio, utilizando o metacril POSS comercial como reticulante e o APMA como monômero catiônico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar rotas sintéticas para produção de novos hidrogéis de terpolímeros a partir de AM, NIPAm e APMA utilizando o metacril POSS como reticulante;
- Avaliar rotas sintéticas para produção de novos hidrogéis de copolímeros a partir de APMA e NIPAm utilizando o metacril POSS como reticulante;
- Caracterizar os hidrogéis obtidos quanto a sua estrutura utilizando FT-IR e RMN-¹H;
- Caracterizar suas propriedades térmicas utilizando TGA e DSC;
- Avaliar suas propriedades de inchamento em resposta a variações de pH e temperatura;
- Avaliar sua citotoxicidade através do ensaio direto MTT.

4 PARTE EXPERIMENTAL

Neste trabalho foram sintetizadas duas classes de hidrogéis, os hidrogéis formados por três monômeros diferentes, chamados neste trabalho de terpolímeros, e os hidrogéis sintetizados a partir de apenas dois monômeros diferentes, chamados de copolímeros.

A fim de facilitar a leitura e a compreensão das nomenclaturas utilizadas para cada hidrogel, as mesmas estão definidas na Tabela 2 e na Tabela 3. Cada um dos hidrogéis sintetizados possui proporções molares diferentes dos monômeros.

Tabela 2. Proporções molares entre os monômeros nos hidrogéis de terpolímeros sintetizados.

Amostra	Acrilamida	APMA	NIPAm
AM	1	0	0
APMA	0	1	0
NIPAm	0	0	1
AM1-APMA1-NIPAm1	1	1	1
AM1-APMA1-NIPAm2	1	1	2
AM1-APMA1-NIPAm4	1	1	4
AM1-APMA2-NIPAm1	1	2	1
AM1-APMA4-NIPAm1	1	4	1

Tabela 3. Proporção em porcentagem molar entre os monômeros dos hidrogéis de copolímeros sintetizados

Amostra	APMA (%mol)	NIPAm (%mol)
APMA5-NIPAm95	5	95
APMA10-NIPAm90	10	90
APMA15-NIPAm85	15	85

4.1 MATERIAIS

Na realização desse trabalho foram utilizados os seguintes materiais:

- Acrilamida (AM) 99% adquirida junto a Sigma-Aldrich;
- N-isopropilacrilamida (NIPAm) 97% obtida da Sigma-Aldrich;
- Hidrocloro de N-(3-aminopropil) metacrilamida (APMA) 98% da Polyscience, Inc.;
- Peróxido de Benzoíla (PB) 25% de água, adquirido da Merck;
- Metacril POSS – Cage Mixture (MA0735), chamado daqui em diante apenas de POSS, obtido da Hybrid Plastics, Inc.;
- Tetraidrofurano (THF) grau P.A. obtido junto a Fmaia;
- Álcool Metílico grau P.A. adquirido da NEON;
- Óxido de Deutério da Sigma-Aldrich;
- Ácido Cítrico anidrido adquirido da empresa Nuclear;
- Fosfato Dissódico Dibásico P.A. adquirido da Synth.

O Peróxido de benzoíla foi recristalizado antes da utilização e posteriormente guardado no congelador sob atmosfera inerte. Todos os demais reagentes foram utilizados como recebidos.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Síntese dos Hidrogéis

Para a síntese dos hidrogéis, os monômeros, iniciador (PB) e reticulante (POSS) foram pesados em balança analítica e adicionados a um balão de fundo redondo juntamente com o solvente. O balão foi selado com septo para permitir posterior degasagem. O solvente majoritário utilizado foi o THF⁸, com a adição de algumas gotas de metanol quando necessário para ajudar na solubilização dos monômeros. A mistura ficou em agitação vigorosa por 20 minutos, a fim de solubilizar e homogeneizar os reagentes, e em seguida foi degasada em argônio por 30 minutos. Por fim a mistura foi colocada em estufa com temperatura controlada em 64 ± 1 °C. A quantidade de iniciador foi fixada em 0,01 g e a proporção de reticulante foi mantida fixa em 1:25 mol/mol, como previamente utilizada na literatura⁸.

Após o tempo de reação foi adicionado água aos balões. Os hidrogéis ficaram imersos em água por 24 horas e a mesma foi trocada duas vezes nesse período. Então os hidrogéis foram colocados em THF para a extração completa do iniciador e agente reticulante residual. Após duas horas eles foram colocados mais uma vez em água para a extração do THF e dos subprodutos. As amostras ficaram imersas em água por mais três dias e a água foi trocada duas vezes por dia. A seguir as amostras foram colocadas em estufa a vácuo a temperatura de 45 °C por 48 horas e armazenadas em dessecador para posterior uso.

Inicialmente foram sintetizados homopolímeros de NIPAm nas mesmas condições descritas acima variando a proporção entre monômero e solvente para determinar qual a melhor quantidade de solvente a ser utilizada. Foram testadas concentrações de 20, 30, 40 e 50% m/m, cujas amostras são chamados daqui por diante de NIPAm20, NIPAm30, NIPAm40 e NIPAm50, respectivamente. Uma vez que a quantidade ideal de solvente foi determinada como sendo 50% m/m partiu-se para a determinação do melhor tempo de reação. Nesse caso foram testados tempos de 12, 24, 36 e 48 horas, sendo escolhido o tempo de 24 horas. Essas amostras serão denominadas NIPAm12, NIPAm24, NIPAm36 e NIPAm48 daqui por diante.

Os hidrogéis de terpolímeros foram sintetizados com os monômeros nas proporções molares apresentadas na Tabela 2. Dessa forma as amostras AM, APMA e NIPAm tratam-se de hidrogéis de homopolímeros de acrilamida, N-(3-aminopropil) metacrilamida e N-isopropilacrilamida respectivamente, utilizados para controle. Já os hidrogéis de copolímeros foram sintetizados com as porcentagens molares apresentadas na Tabela 3.

A Figura 7 mostra um esquema da reação para o caso da utilização dos três monômeros. Todas as demais reações seguem o mesmo princípio, porém com a ausência de um ou mais monômeros.

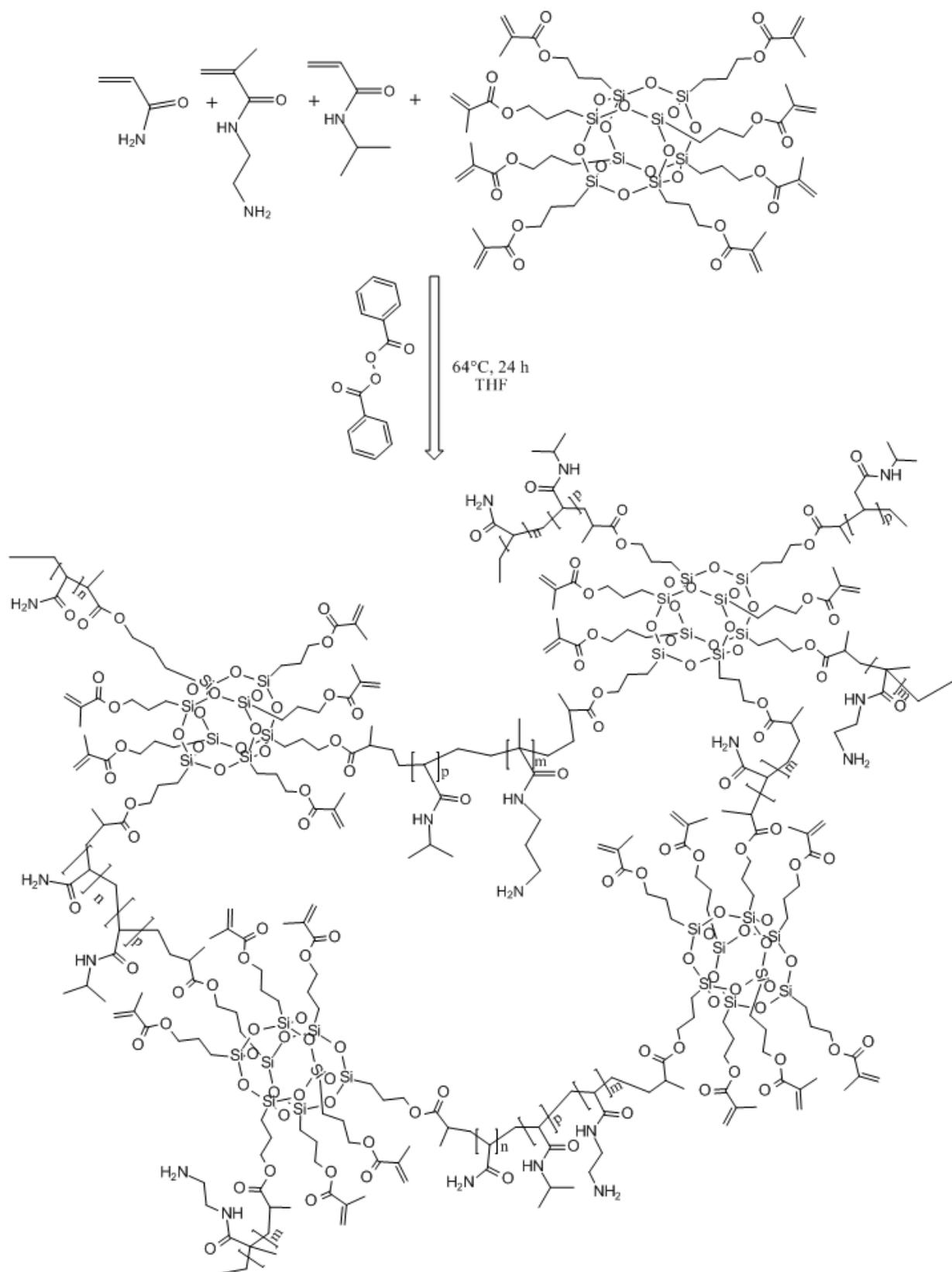


Figura 7. Esquema da reação de obtenção dos hidrogéis utilizando os três monômeros diferentes.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS

4.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho (FT-IR)

Os espectros de FT-IR foram obtidos utilizando um espectrômetro Varian 640 IR operando no modo ATR na faixa de 4000 a 600 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras em modulo de transmitância. As amostras foram previamente secas em estufa à vácuo por 48 horas a 45 °C.

4.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN- ^1H)

As análises de RMN- ^1H foram realizadas utilizando água deuterada como solvente em um equipamento Varian operando a uma frequência de 400 MHz. Foram utilizados 32 *scans* e um tempo de relaxação de 5 s.

Para o preparo das amostras os hidrogéis secos foram triturados em nitrogênio líquido e então colocados nos tubos de RMN na presença da água deuterada. As amostras foram deixadas em geladeira por 24 horas para atingirem o equilíbrio, durante 20 minutos em ultrassom antes da realização da análise.

4.3.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

Para a análise de TGA foram utilizadas em torno de 5 mg de cada amostra, as quais foram aquecidas até 550 °C a uma taxa de 10 °C/min em atmosfera de nitrogênio num fluxo de 100 ml/min. As análises foram realizadas em um analisador térmico TA Instruments modelo SDT Q600, utilizando panelinha de platina.

4.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As medidas de DSC foram realizadas em um equipamento de modelo DSC Q20 da TA Instruments utilizando atmosfera de nitrogênio (50 ml/min). Foram utilizadas aproximadamente 5 mg de cada amostra, as quais foram aquecidas de 40 °C até 150 °C com uma isoterma de 5 minutos. Em seguida as amostras foram resfriadas até -20 °C com mais uma isoterma de 5 minutos. Por último elas foram aquecidas novamente até a temperatura onde apresentaram perda de massa 10% no TGA. As análises foram conduzidas a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min.

4.3.5 Grau de Inchamento

O grau de inchamento foi obtido gravimetricamente e foi avaliado em função da temperatura e em função do pH. Os hidrogéis permaneceram imersos por um período de 24 horas antes de cada medida. Os graus de inchamento foram expressos em porcentagem e obtidos utilizando a Equação 4.1^{8, 63}.

$$GI = \frac{M_I - M_0}{M_0} \times 100 \quad (4.1)$$

Onde M_0 é a massa do hidrogel seco e M_I é a massa do hidrogel intumescido.

4.3.5.1 Grau de Inchamento em Função da Temperatura

A fim de avaliar a resposta dos hidrogéis a variações de temperatura foram realizados testes de inchamento nas temperaturas de 20, 25, 30, 37, 45, 50, 55, 60, 70 e 80 °C. Para realização desse teste amostras com massas variando entre 10 e 30 mg foram mergulhadas em solução tampão de pH 7,4 (pH do sangue) por 24 horas.^{8, 63} Então, os frascos fechados contendo as amostras em solução foram mergulhados em um banho termostatizado na temperatura desejada. Após as 24 horas as amostras foram retiradas da solução, secas com papel filtro úmido e pesadas em balança analítica. Ao fim da pesagem elas foram devolvidas à solução que foi colocada no banho na nova temperatura. Para cada um dos hidrogéis foram analisadas pelo menos cinco amostras.

4.3.5.2 Grau de Inchamento em Função do pH

Com o intuito de estudar a resposta dos hidrogéis sintetizados às variações de pH do meio foram preparadas soluções tampão de McIlvaine⁷⁰, que utilizam fosfato dissódico dibásico e ácido cítrico. Foi escolhida essa solução tampão porque, devido aos diferentes pK_a do grupo fosfato, foi possível fazer soluções com pH variando de 2,2 a 8 utilizando o mesmo par ácido-base. As soluções utilizadas foram as de pH 2,2; 2,6; 3,0; 3,6; 4,0; 6,0; 7,4 e 8,0. Os valores de pH das soluções foram ajustados utilizando um pHmetro.

Nesse caso também foram utilizadas cinco amostras de cada hidrogel, as quais foram pesadas secas, adicionadas à solução tampão de pH desejado e colocadas em banho termostatizado a temperatura de 37 °C (temperatura fisiológica)^{8, 63}. Após 24 horas as amostras foram retiradas da solução, secas com papel filtro úmida para retirada do excesso de

água e pesadas. Ao fim da pesagem as amostras foram secadas em estufa a vácuo por 48 horas a temperatura de 40 °C antes da realização do teste com o novo pH.

4.3.6 Citotoxicidade

Células de fibroblastos de camundongos, da linhagem celular NCTC clone 929 (cepa L), conhecidas como L929, foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro. As células foram incubadas a 37°C em atmosfera umedecida com 5% de CO₂. Os ensaios de citotoxicidade foram realizados de acordo com a ISO 10993-5:2009. As células foram plaqueadas em placa de cultura de 96 poços com uma concentração de 7x10³ células/poço em 100 µl de meio. Após 8 horas do plaqueamento foram adicionados os hidrogéis; os hidrogéis ficaram em contato direto com as células por 72 horas. O meio foi removido e foram adicionados 50 µl de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (1 mg/ml). Após 2 h de incubação a 37 °C os sais de Formazan formados foram diluídos em 100 µl de DMSO e a absorbância lida foi de 570 nm. Os dados estão expressos em porcentagem de citotoxicidade em relação ao controle negativo (100%). O controle negativo foram células L929 em contato apenas com meio de cultura e o controle positivo (indutor de morte celular) foram células L929 em contato com meio contendo 10% DMSO.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 SÍNTESE DOS HIDROGÉIS – DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS

5.1.1 Proporção Solvente/Monômero

A proporção de solvente em relação ao monômero foi determinada para o hidrogel do de NIPAm. Para tanto foi realizado um teste de grau de inchamento em função do tempo para cada uma das proporções estudadas (20, 30, 40 e 50%). Nesse experimento foi possível observar que quanto maior a quantidade de solvente mais rápida era a absorção de água, chegando a 930% em apenas duas horas quando a quantidade de monômero em solução era de 20% e 750% para 30%. Entretanto, os hidrogéis NIPAm20 e NIPAm30 solubilizaram após a segunda hora em água. O NIPAm40 permaneceu imerso por 5 horas antes de se desmanchar e apresentou um grau de inchamento de aproximadamente 400% ao final das 5 horas. Já o NIPAm50 ficou por 48 horas imerso em água e se manteve estável, apresentando um grau de inchamento final aproximadamente 600%. Seu grau de inchamento não mudou de 24 para 48 horas, de forma que foi estabelecido 24 horas como o tempo necessário para o material atingir o equilíbrio.

Essa tendência do NIPAm50 de permanecer estável enquanto os demais hidrogéis se dissolveram e as diferenças nas taxas de absorção de água que foram atribuídas a diferentes graus de reticulação. É possível afirmar que em uma solução mais diluída as moléculas estão mais separadas e quando a viscosidade do meio aumenta devido ao aumento da massa molecular elas não conseguem mais se aproximar para finalizar a reticulação, não sendo possível formar uma rede tridimensional. Em um meio mais concentrado a formação da rede tridimensional foi favorecida e por esse motivo os experimentos posteriores foram realizados utilizando a proporção de solvente/monômero de 50% massa/massa.

5.1.2 Tempo de Reação

A fim de determinar o tempo ótimo de reação foram sintetizados hidrogéis de NIPAm com tempos de reação de 12, 24, 36 e 48 horas. Esses hidrogéis foram submetidos a um teste de grau de inchamento para analisar se haveria variação em sua capacidade expansão e de estabilidade conforme foi observado quando o teste foi feito para a proporção de solvente/monômero. Entretanto, as diferenças de grau médio de inchamento e de estabilidade dos mesmos quando imersos não foram significativas (Figura 8. Grau de inchamento em função do tempo para os hidrogéis de NIPAm com 12, 24, 36 e 48 horas de reação.). Porém, o

que chamou bastante atenção foi que o desvio padrão diminuiu drasticamente com o aumento do tempo de reação de 12 para 24 horas, sendo de aproximadamente 60% em 12 horas e em torno de 20% para os demais tempos de reação.

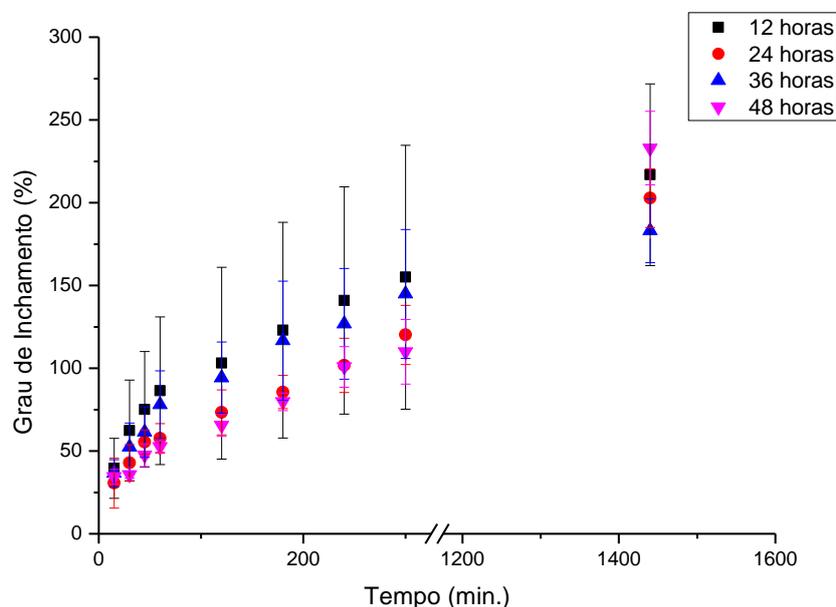


Figura 8. Grau de inchamento em função do tempo para os hidrogéis de NIPAm com 12, 24, 36 e 48 horas de reação.

Concluiu-se que, com 24 horas de reação ou mais o material apresentava maior homogeneidade do que com apenas 12 horas, ou seja, com 12 horas de reação a reticulação não havia sido concluída em toda a extensão no gel, tendo partes mais reticuladas e outras menos, gerando diferenças nos graus de inchamento dependendo se a mostra era do interior do gel ou mais periférica. Como as diferenças entre os desvios padrões, assim como nos graus de inchamento, entre os tempos de 24, 36 e 48 horas não foram significativas então optou-se por utilizar um tempo de reação de 24 horas.

5.1.3 Síntese dos Hidrogéis

Os hidrogéis foram sintetizados por polimerização radicalar em solução. A polimerização foi realizada para todos os hidrogéis da mesma forma, independente das proporções entre os monômeros, utilizando os parâmetros determinados para hidrogéis de NIPAm.

A utilização dos mesmos parâmetros para todos os hidrogéis sintetizados gerou amostras com diferentes tamanhos de cadeia e graus de reticulação. Isso porque, apesar das razões de reatividade dos monômeros e dos monômeros com o metacril POSS não terem sido determinadas, foi possível perceber diferenças entre elas. Mesmo que a proporção de reticulante usada tenha sido a mesma em todos os materiais obtidos, alguns monômeros sofrem polimerização e reticulação mais lenta do que outros e assim apresentam características de inchamento e de rigidez diferentes.

Os hidrogéis apresentaram diferenças na facilidade de manuseio. No caso dos hidrogéis de copolímeros e os hidrogéis de terpolímeros contendo menores proporções de acrilamida se mostraram mais frágeis e quebradiços do que os hidrogéis com maiores proporções de AM. Esses eram mais elásticos e mantiveram sua estrutura mesmo quando era exercida uma força no sentido de achatar os mesmos. Quando a força era removida o hidrogel recuperava sua forma anterior sem maiores danos. No caso dos hidrogéis de copolímeros, fazendo esse mesmo teste qualitativo, ele se desmanchavam.

Essas diferenças puderam ser notadas também na lavagem dos géis pós-reação. Por exemplo, o hidrogel AM absorve grande quantidade de água ficando bastante expandido, porém mesmo após 72 horas em água ele continuava rígido, o que é um indicativo do alto grau de reticulação da amostra. O NIPAm também apresentou rigidez mesmo após as 72 horas em água, entretanto apresentou uma maior tendência a esfrelamento do que o AM devido à baixa resistência mecânica do material^{2, 4}. Essa fragilidade, ou menor capacidade do material de manter sua forma física quando deixado por mais tempo em água, aumentou com o aumento da quantidade de APMA presente no material. Isto pode ser explicado quando observamos as estruturas dos monômeros em questão, mostradas na Figura 9.

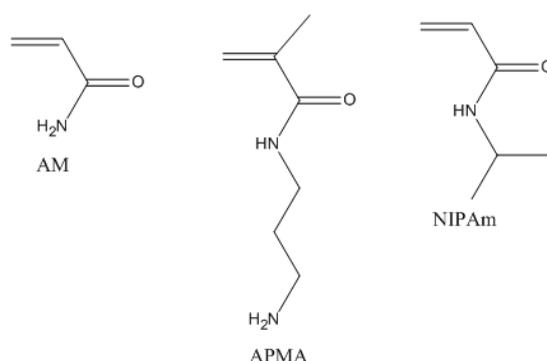


Figura 9. Estrutura química dos monômeros utilizados na obtenção dos hidrogéis.

Observando as diferentes estruturas químicas podemos ver que a ligação dupla do monômero APMA está menos disponível do que nos demais monômeros, uma vez que apresenta, além da cadeia lateral longa contendo o grupo amina, uma metila ligada ao grupo reativo. Esse impedimento do acesso do radical à dupla ligação aumenta a energia de ativação para que a reação ocorra, tornando a reatividade do APMA menor do que a dos demais monômeros e a polimerização mais lenta. Por esse motivo não foi possível obter o hidrogel de 100% APMA nessas condições de reação. Já na lavagem do material após a reação ele solubilizou em água, evidenciando que não havia sido obtida uma rede tridimensional. Os demais hidrogéis foram obtidos com sucesso e os rendimentos de cada reação estão listados na Tabela 4.

Tabela 4. Rendimento das reações de síntese dos hidrogéis.

Amostra	Rendimento (% mássica)
AM	85
NIPAm	80
AM1-APMA1-NIPAm1	76
AM1-APMA1-NIPAm2	80
AM1-APMA1-NIPAm4	91
AM1-APMA2-NIPAm1	68
AM1-APMA4-NIPAm1	60
APMA5-NIPAm95	80
APMA10-NIPAm90	81
APMA15-NIPAm85	81

5.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FT-IR)

A espectroscopia de infravermelho (FT-IR) foi utilizada para caracterizar a estrutura química dos hidrogéis. Na Figura 10 podemos ver o espectro de infravermelho do metacril POSS puro, no qual observamos uma forte banda em 1120 cm^{-1} referente a ligação Si-O. Vemos ainda a banda referente às ligações entre carbonos insaturados em aproximadamente 3100 cm^{-1} , a banda referente às ligações C-C saturados entre 2800 e 2900 cm^{-1} e a banda referentes a ligação C=O em 1720 cm^{-1} .

A Figura 11 mostra os espectros de infravermelho do hidrogel de AM com e sem a presença de do reticulante metacril POSS. Essa análise foi realizada para ver se há alguma mudança no espectro na região próxima a 1120 cm^{-1} onde aparece a banda intensa típica de Si-O.

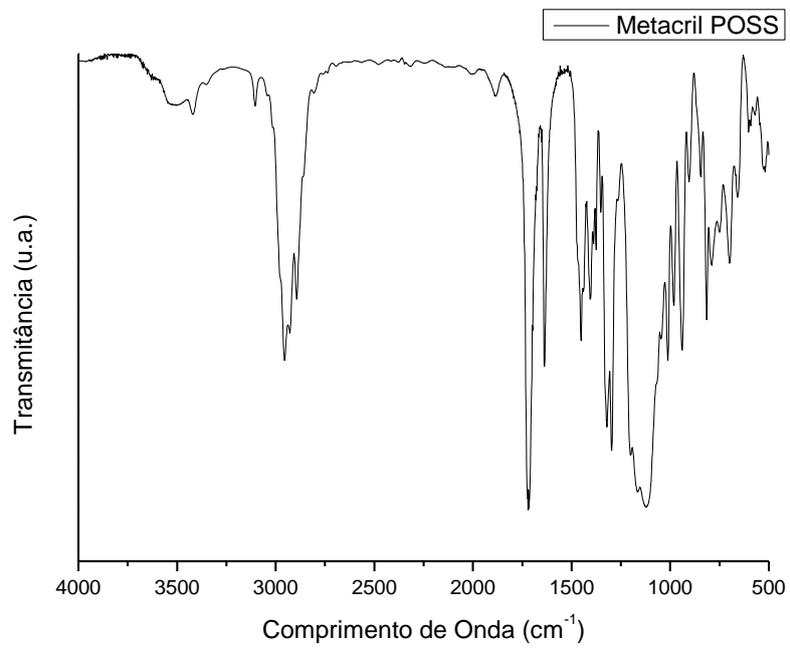


Figura 10. Espectro de infravermelho do reticulante metacril POSS.

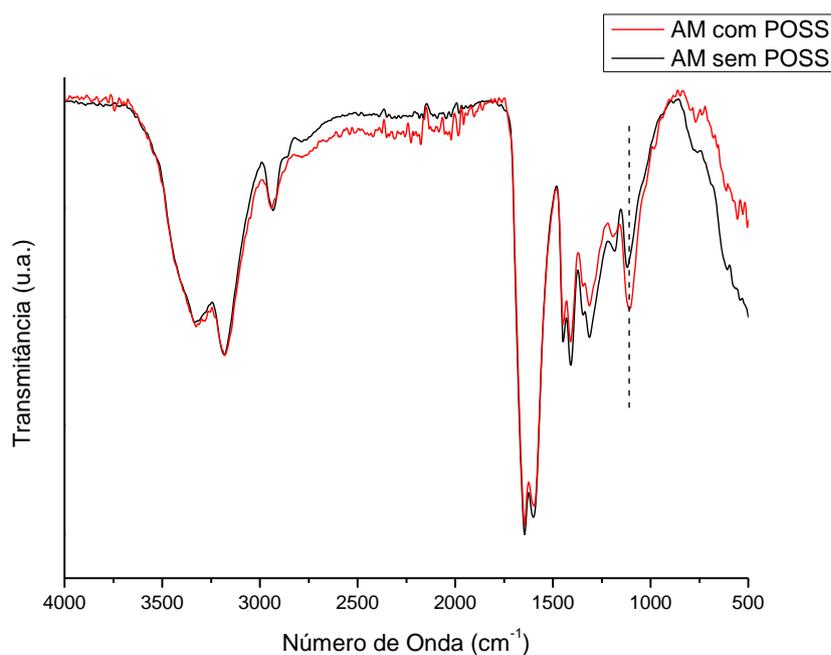


Figura 11. Espectro de FT-IR do hidrogel de AM com e sem a presença do reticulante metacril POSS.

Conforme é possível visualizar de fato há um aumento de intensidade na região da banda típica da ligação Si-O-Si quando comparado ao espectro do polímero na ausência do reticulante⁸. Nessa caso há uma sobreposição das bandas referentes a ligações Si-O e a banda referente a ligação C-C. As demais bandas observadas são bandas típicas da poliacrilamida. Em aproximadamente 3330 cm^{-1} e 3178 cm^{-1} vemos as bandas relativas ao estiramento assimétrico e simétrico da ligação N-H de uma amida primária. Em 1600 cm^{-1} pode ser observada a banda relacionada à flexão da ligação N-H de amidas primárias e em 1645 cm^{-1} podemos observas a banda típica do estiramento da ligação C=O da amida e do éster do reticulante⁷¹.

A Figura 12 mostra o espectro de FT-IR do hidrogel NIPAm, que contém apenas NIPAm e o POSS em sua composição. Podemos observar uma banda larga em torno de 3350 cm^{-1} referente ao estiramento N-H de amida secundária. Uma banda de menor intensidade pode ser observada em 3080 cm^{-1} referente ao estiramento das ligações C-C insaturado do POSS que não reagiram⁸. Em 2980 e 2940 cm^{-1} é possível os observar as bandas referentes às ligações C-C alifáticos. Em aproximadamente 1640 cm^{-1} vemos a banda referente ao estiramento da ligação C=O e em 1550 cm^{-1} vemos a banda referente à flexão da ligação N-H e estiramento da ligação C-N⁷¹. Duas bandas referentes às metilas do grupo isopropil aparecem em 1366 e 1387 cm^{-1} ⁷².

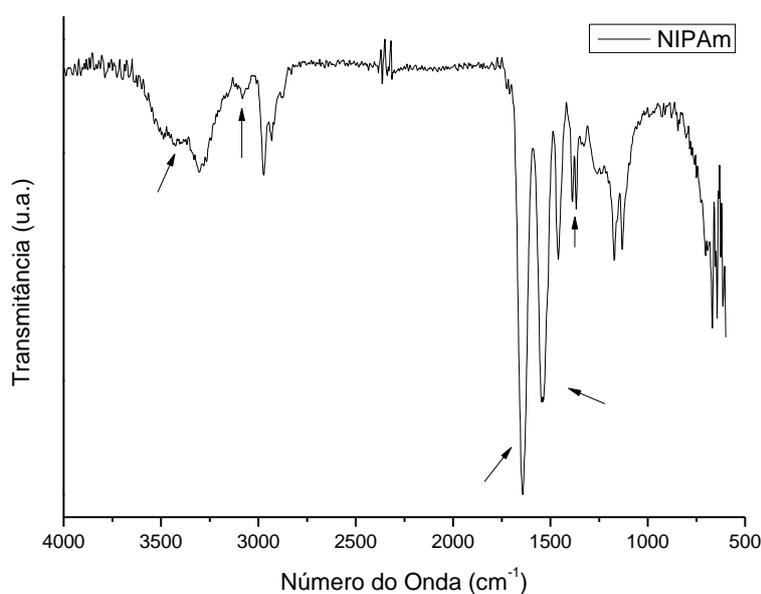


Figura 12. Espectro do FT-IR referente ao hidrogel NIPAm.

A Figura 13 mostra o espectro de FT-IR dos hidrogéis AM1-APMA1-NIPAm1, AM1-APMA1-NIPAm2, AM1-APMA1-NIPAm4, AM1-APMA2-NIPAm1 e AM1-APMA4-NIPAm1 que contêm os três monômeros (AM, NIPAm e APMA). O perfil das curvas é bastante semelhante, em torno de 3550 cm^{-1} observa-se uma banda referente às amidas primárias, secundárias e aminas primárias. A banda das ligações C=C, vista no espectro do NIPAm está, provavelmente, encoberta pela banda da ligação N-H. A banda referente ao grupo C=O aparece em torno de 1635 cm^{-1} . Pode-se observar que essa banda é mais alargada no AM1-APMA1-NIPAm1, e que vai ser estreitando com a diminuição da quantidade de acrilamida na composição. Isso se dá, provavelmente, pela maior presença de ligações de hidrogênio entre as cadeias de acrilamida⁷². Em torno de 1540 cm^{-1} aparece a banda referente as ligações N-H e C-H, as duas bandas dos CH₃ do grupo isopropil aparecem com boa resolução no AM1-APMA1-NIPAm4, que contém maior quantidade de NIPAm, nos demais espectros elas aparecem, entretanto, com pouca resolução.

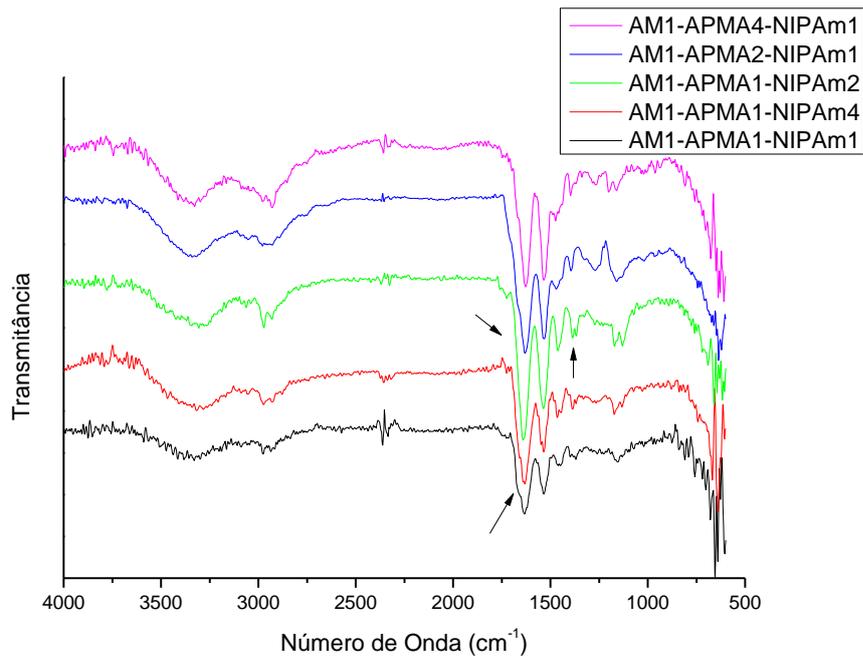


Figura 13. Espectro de FR-TR dos hidrogéis de terpolímeros.

A Figura 14 mostra os espectros dos hidrogéis de copolímeros de NIPAm e APMA, as mesmas bandas típicas de amidas e amins estão presentes. Assim como a banda referente às ligações C=C insaturado remanescentes do POSS em 3080 cm^{-1} e as duas bandas das metilas do grupo isopropil do NIPAm.

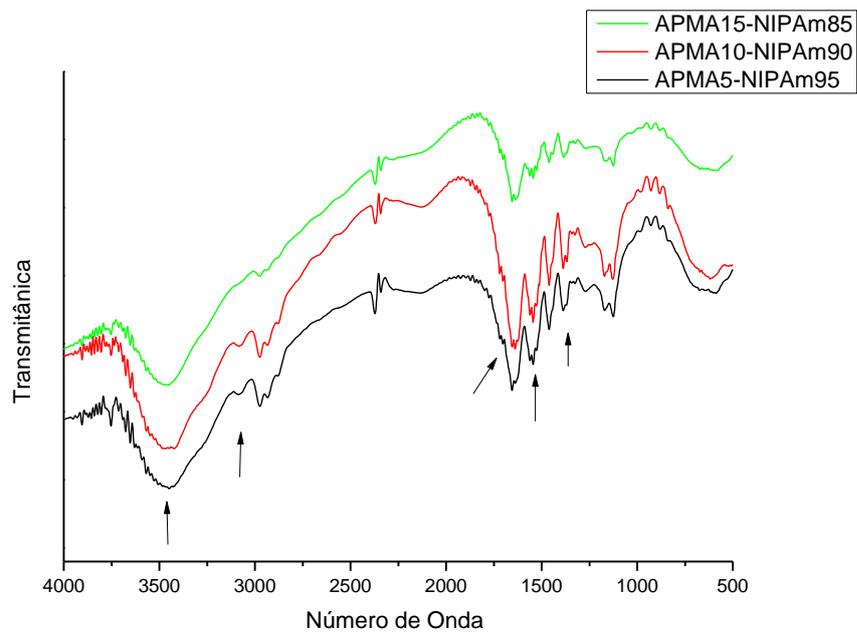


Figura 14. Espectros de FT-IR do hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85.

5.3 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PRÓTON (RMN-¹H)

Os hidrogéis foram caracterizados quanto a suas estruturas químicas também através de RMN-¹H. Na Figura 15 é possível ver os espectros dos hidrogéis de homopolímeros AM e NIPAm. No caso do hidrogel de acrilamida vemos os picos referentes aos hidrogênios da cadeia de poli(acrilamida). O pico em torno de 1,6 ppm é atribuído aos hidrogênios do carbono secundário e o pico em torno de 2,2 ppm é atribuído ao hidrogênio do carbono terciário. É possível ver também um forte pico de água em torno de 5,7 ppm⁷³. Para o hidrogel de NIPAm é possível identificar, além dos picos relacionados à cadeia polimérica em, aproximadamente, 1,4 ppm e 1,7 ppm, os picos referentes ao grupo isopropila. Os hidrogênios das metilas aparecem em aproximadamente 1 ppm e o hidrogênio do carbono terciário desse grupo aparece em aproximadamente 3,75 ppm⁷⁴⁻⁷⁶.

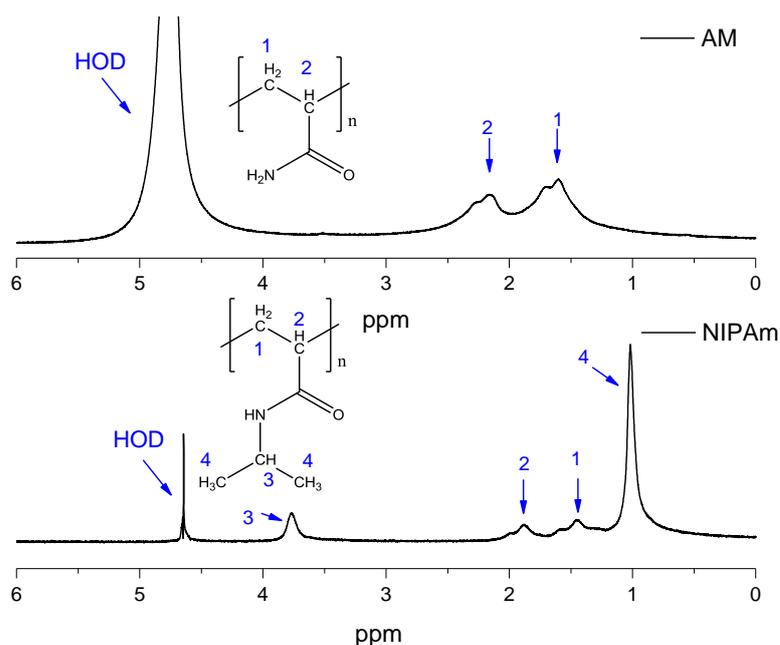


Figura 15. Espectros de RMN-¹H das amostras AM e NIPAm.

A Figura 16 mostra o espectro de RMN-¹H do hidrogel APMA15-NIPAm85, que apresenta os mesmo picos dos espectros obtidos para os hidrogéis APMA5-NIPAm95 e APMA10-NIPAm90 que estão em anexo. É possível observar os picos referentes à cadeia principal em preto, a cadeia lateral do monômero APMA em azul e à cadeia lateral do monômero NIPAm em vermelho.

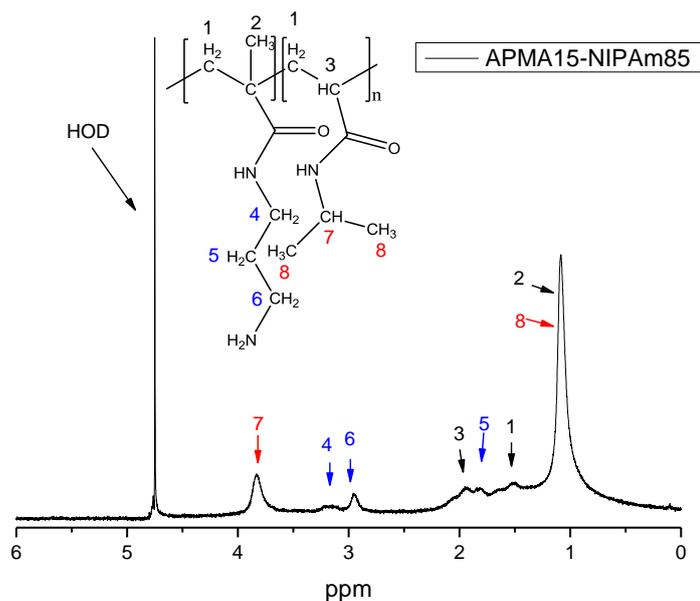


Figura 16. Espectro de RMN-¹H do APMA15-NIPAm85.

Os hidrogênios ligados ao carbono da metila do metacrilato aparecem em 1 ppm, junto com os hidrogênios das metilas do grupo isopropila do NIPAm. Os hidrogênios da cadeia principal, juntamente com os hidrogênios do carbono 5, aparecem numa região bastante alargada que vai de 1 até 2,2 ppm, como foi observado nos hidrogéis de homopolímeros. Os hidrogênios do carbono 4, ligados ao NH da amida, aparecem em torno de 3,2 ppm e os hidrogênios ligados ao carbono 6 aparecem em 2,95 ppm. O hidrogênio terciário do isopropil aparece em 3,85 ppm.

Utilizando as integrais dos sinais dos hidrogênios ligados aos carbonos 6 e 7, referentes ao monômero AMPA e ao NIPAm respectivamente, é possível determinar a porcentagem molar de cada monômero no hidrogel. Para tanto foram utilizados os cálculos que se seguem, onde I(H6) se refere ao valor da integral do pico referente os hidrogênios ligados ao carbono 6 e I(H7) se refere à integral do pico referente ao hidrogênio ligado ao carbono 7. O valor de I(H4) é dividido por dois porque essa área é referente a dois hidrogênios.

$$\% APMA = \frac{I(H6)/2}{I(H6)/2 + I(H7)} \times 100 \quad (5.1)$$

$$\% NIPAm = \frac{I(H7)}{I(H6)/2 + I(H7)} \times 100 \quad (5.2)$$

As porcentagens encontradas para os hidrogéis de copolímero se encontram na Tabela 5, junto com as porcentagens nominais para cada amostra.

Tabela 5. Porcentagem de cada monômero presente nos hidrogéis de copolímero.

Amostra	Porcentagem Nominal		Porcentagem Calculada	
	AMPA	NIPAm	APMA	NIPAm
APMA5-NIPAm95	5%	95%	8%	92%
APMA10-NIPAm90	10%	90%	12%	88%
APMA15-NIPAm85	15%	85%	17%	83%

Vemos que a porcentagem de cada monômero no copolímero é um pouco mais alta do que a porcentagem nominal, mas que as variações são pequenas. Essas diferenças podem estar relacionadas a erro experimental, uma vez que o pico referente à água é bastante grande e, portanto os picos de interesse ficam muito próximos à linha de base. Além disso, os picos são pouco resolvidos devido à presença de ligações de hidrogênio. Foram feitas tentativas de aumentar a concentração, de hidrogel na água deuterada para diminuir o erro com relação à linha de base, mas com o aumento da concentração, há um aumento nas ligações de hidrogênio e os picos ficam ainda menos resolvidos tornando a quantificação impossível. As diferenças podem ainda estar relacionadas com diferenças de solubilidade entre os monômeros e a própria reatividade. Apesar de ter sido percebida uma menor reatividade do monômero APMA em relação ao reticulante não foi determinada a reatividade dele em relação aos demais componentes.

A Figura 17 mostra os espectros de RMN-¹H dos hidrogéis de terpolímeros AM1-APMA1-NIPAm4 e AM1-APMA4-NIPAm1. É possível observar que com o aumento da quantidade de APMA o hidrogel se torna mais hidrofílico e seus picos vão ficando cada vez mais alargados devido às ligações de hidrogênio.

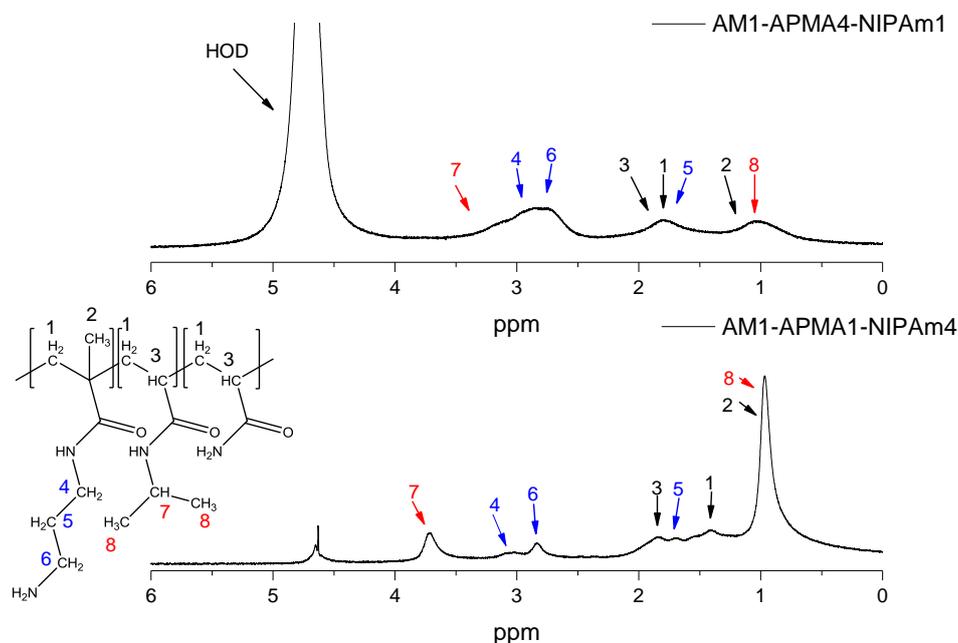


Figura 17. Espectros de RMN-¹H dos hidrogéis AM1-APMA1-NIPAm4 e AM1-APMA4-NIPAm1.

Os picos apresentados são os mesmos apresentados nos espectros dos hidrogéis de copolímeros, uma vez que os picos referentes à acrilamida estão sobrepostos pelos picos dos demais monômeros. Nesse caso não é possível determinar as proporções entre os monômeros nesse caso, pois, além de os picos dos estarem sobrepostos, eles perdem a resolução com o aumento da hidrofiliicidade do hidrogel.

5.4 ANÁLISES TÉRMICAS

As propriedades térmicas dos hidrogéis secos foram avaliadas através das técnicas de TGA e DSC. A técnica de TGA foi utilizada para avaliar a estabilidade térmica dos hidrogéis obtidos. A Figura 18 mostra as curvas obtidas para os hidrogéis formados por homopolímeros de acrilamida e NIPAm. Para o hidrogel de NIPAm é possível identificar um evento em aproximadamente 120 °C referente à perda da água ligada e um evento que tem início em aproximadamente 320 °C que se refere ao início da degradação das cadeias poliméricas^{8, 77}. O

máximo do pico de degradação foi em aproximadamente 409 °C. No caso do hidrogel de acrilamida há uma perda abrupta de massa em uma temperatura de aproximadamente 206 °C referente à perda da água de água, a qual se estende de maneira mais suave até aproximadamente 340 °C, onde a degradação das cadeias poliméricas tem seu início, com pico máximo em 404 °C⁷⁸. A maior resistência térmica da AM em relação ao NIPAm é devido à maior facilidade de empacotamento das moléculas e de fazer ligações de hidrogênio com as moléculas vizinhas devido à ausência de grupos laterais volumosos.

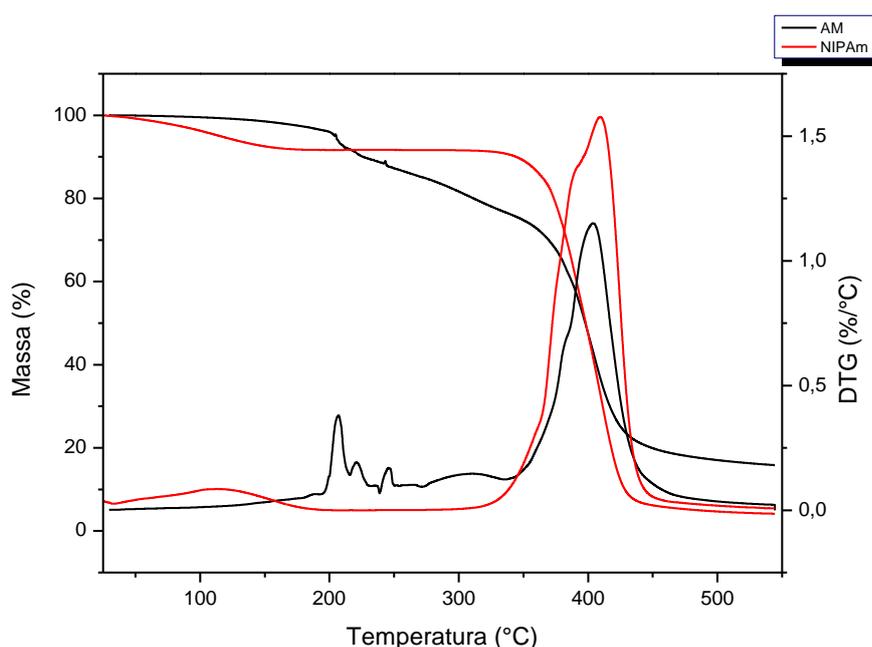


Figura 18. TGA e DTG dos hidrogéis de homopolímeros de AM (AM) e NIPAm (NIPAm).

A Figura 19 mostra as curvas de TGA para as amostras de hidrogéis de terpolímeros. Pode-se observar que todos os hidrogéis apresentam perdas de massa referente à água ligada até o início da degradação que, para os terpolímeros, tem início em aproximadamente 270 °C. Entretanto, o AM1-APMA1-NIPAm4, que possui uma maior proporção de NIPAm, teve um comportamento mais semelhante ao hidrogel de NIPAm puro, e a perda da água ligada foi até apenas 210 °C. Essa diferença pode estar relacionada com a diferença de hidrofiliabilidade dos materiais. A diminuição na hidrofiliabilidade pelo aumento da quantidade de NIPAm tornaria a saída da água mais fácil uma vez que ela não estaria tão fortemente ligada à matriz polimérica. A temperatura de degradação diminuiu consideravelmente devido à inserção do monômero APMA na cadeia, que devido à sua cadeia lateral mais longa e de se tratar de um monômero 1,1 dissubstituído, diminuiu o empacotamento das cadeias e fragiliza o material.

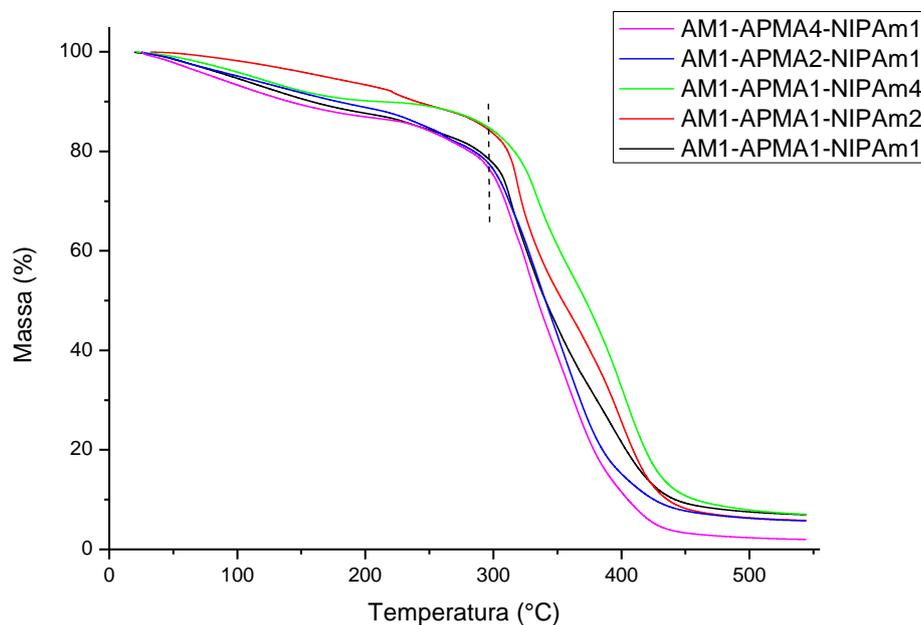


Figura 19. Curvas de TGA dos hidrogéis de terpolímeros.

A Figura 20 mostra as curvas de DTG para os hidrogéis de terpolímeros. É interessante analisar que existem ao menos dois eventos bem definidos ocorrendo e que a intensidade dos eventos muda com a variação nas proporções entre os monômeros. O primeiro deles tem seu máximo em torno de 320 °C e o segundo em torno de 400 °C. A intensidade do primeiro evento aumenta com o aumento da quantidade de AMPA na amostra e está, muito provavelmente, relacionada à degradação dos segmentos desse monômero e o segundo evento está relacionado com a degradação dos segmentos de AM e NIPAm. As curvas dos hidrogéis AM1-APMA2-NIPAm1 e AM1-APMA4-NIPAm1 apresentam três máximos referentes ao APMA que podem ser referentes à degradação das cadeias mais externas do hidrogel que degradam primeiro e à degradação das cadeias internas que ocorre depois. O segundo evento em torno de 400 °C está encoberto pelo alargamento do pico de degradação do APMA e pode ser visto apenas como um ombro.

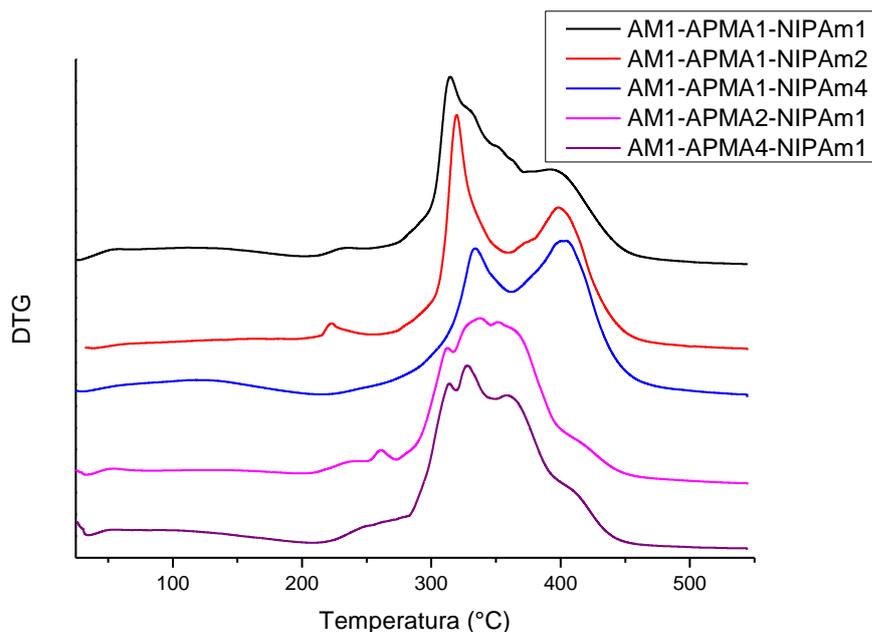


Figura 20. Curvas de DTG dos hidrogéis de terpolímeros.

As Figura 21 e Figura 22 mostram as curvas de TGA e DTG para os hidrogéis que contém apenas APMA e NIPAm em sua composição. Os perfis das curvas são muito semelhantes entre si e mostram um evento até 200 °C relacionado à perda da água ligada e o início da degradação em torno de 260 °C. Analisando as curvas de DTG observamos mais uma vez a ocorrência de dois eventos térmicos distintos durante a degradação das cadeias poliméricas. Um evento bem menos intenso com máximo em torno de 360 °C referente aos segmentos de APMA e outro com máximo em torno de 406 °C referente à degradação dos segmentos de NIPAm.

Segundo relatos da literatura, a estabilidade térmica dos hidrogéis aumenta na presença de POSS^{8,79}. Zanh et al.⁸ reportam um aumento 26 °C na temperatura de degradação de hidrogéis de hidrogéis de N-N-dimetilamino etil-metacrilato (DMAEMA) na presença de 10% de POSS, quando comparado com o hidrogel sem o siloxano.

As temperaturas de transição vítrea dos hidrogéis estão listadas na Tabela 6. As curvas de DSC se encontram em anexo. Podemos ver que as T_g dos materiais são bastante altas, variando de 139 a 173 °C, o que pode ser explicado pela presença de ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas e presença do POSS, que é extremamente rígido. Zeng et al.⁷⁷

observaram um aumento na T_g de hidrogéis de NIPAm com o aumento da quantidade de POSS, variando de 145 a 174 °C com o aumento de 5 para 10% de POSS.

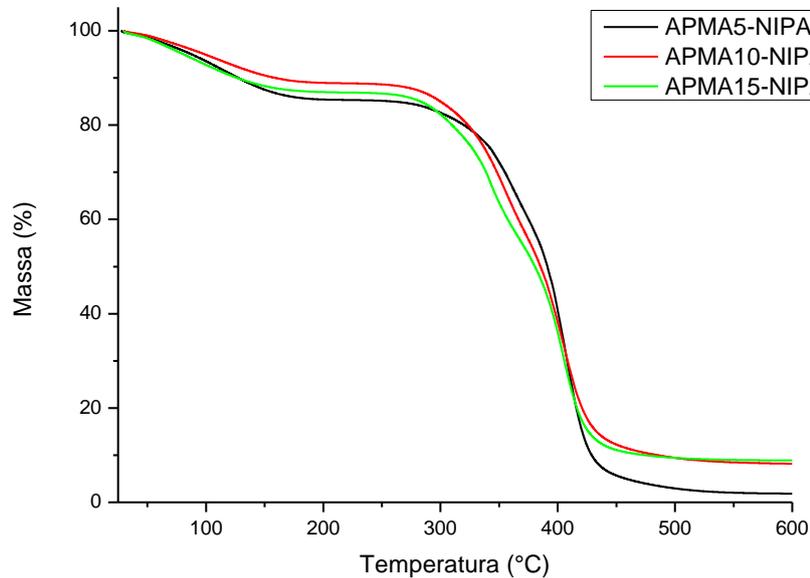


Figura 21. Curvas de TGA dos hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85.

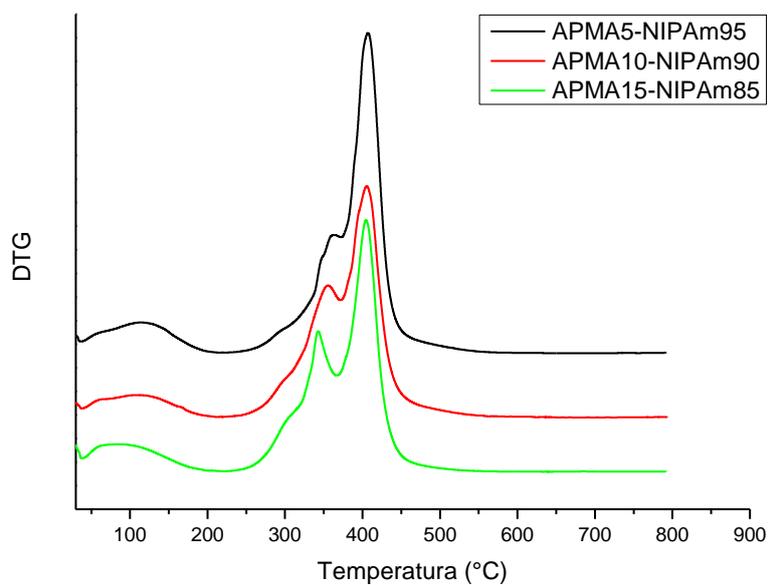


Figura 22. Curvas de DTG dos hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85.

Tabela 6. Temperaturas de transição vítrea dos hidrogéis secos.

Amostra	T_g (°C)
AM	173
NIPAm	144
AM1-APMA1-NIPAm1	173
AM1-APMA1-NIPAm2	170
AM1-APMA1-NIPAm4	168
AM1-APMA2-NIPAm1	169
AM1-APMA4-NIPAm1	ND
APMA5-NIPAm95	139
APMA10-NIPAm90	152
APMA15-NIPAm85	160

5.5 GRAU DE INCHAMENTO

As medidas do grau de inchamento em função da temperatura foram realizadas em uma solução tampão de pH 7,4. Nessas condições, o hidrogel de acrilamida apresentou um aumento no seu grau de inchamento (GI) com o aumento da temperatura, conforme pode ser observado no gráfico da Figura 25 (a). Zang e Peppas⁷², mostraram através da técnica de FT-IR a presença de ligações de hidrogênio entre cadeias poliméricas em hidrogéis de NIPAm a ácido metacrílico. Analisando a estrutura da poliacrilamida (Figura 23) é possível perceber que as cadeias podem facilmente fazer ligações de hidrogênio entre si. Dessa forma, o aumento gradual no intumescimento pode ser explicado pelo enfraquecimento das ligações de hidrogênio existentes entre as cadeias de poliacrilamida com o aumento da temperatura. Com esse enfraquecimento a água é capaz de penetrar entre as cadeias, quebrando essas ligações entre as cadeias, estabelecendo novas ligações de hidrogênio polímero-solvente, aumentando o grau de inchamento.

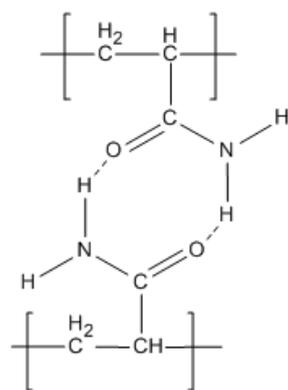


Figura 23. Possível configuração química para formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias de poliacrilamida no hidrogel.

Hidrogéis baseados em NIPAm apresentam um comportamento de transição de fase do tipo LCST, ou seja, se tornam insolúveis acima de uma dada temperatura havendo uma drástica redução no GI quando a temperatura do meio se iguala a essa temperatura crítica. Esse comportamento foi observado para o hidrogel de NIPAm, conforme mostrado na Figura 25 (b), e ocorre porque em temperaturas inferiores à LCST as interações entre os segmentos hidrofílicos e as moléculas de água, através de ligações de hidrogênio, são dominantes, favorecendo o inchamento. Quando a temperatura do meio atinge a temperatura crítica, as interações hidrofóbicas entre os grupos isopropil passam a ser dominantes, levando a uma diminuição do GI¹⁸. O NIPAm apresentou um decaimento exponencial em seu GI na faixa de temperatura estudada, com LCST de 22 °C, a qual foi determinada como sendo a temperatura na qual o inchamento caiu pela metade⁶³. A Figura 24 mostra a aparência do hidrogel de NIPAm quando seco em estufa a vácuo (a), após 24 em solução de pH 7,4 abaixo da temperatura de transição (b) e após 24 horas em solução de pH 7,4 acima da sua temperatura de transição (c).

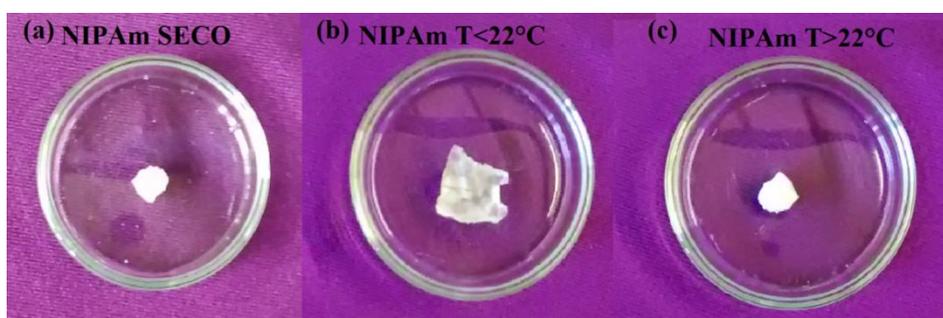


Figura 24. Comportamento de inchamento do hidrogel de NIPAm. (a) hidrogel seco em estufa a vácuo, (b) hidrogel após 24 em solução em temperatura abaixo da LCST e (c) hidrogel após 24 horas em solução acima da LCST.

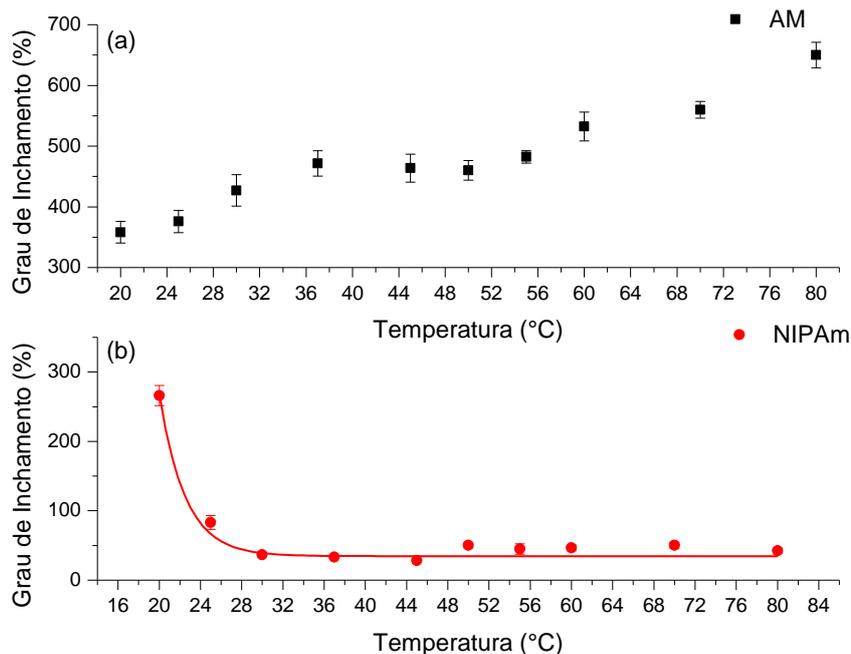


Figura 25. Grau de inchamento em função da temperatura dos hidrogéis AM (a) e NIPAm(b).

A temperatura de transição ficou abaixo dos 32 °C que seriam esperados para um hidrogel de NIPAm, o que pode ser explicado por um alto grau de reticulação e pela rigidez conferida ao hidrogel pelo POSS. Ambos os fatores aumentam o efeito elástico sobre as cadeias poliméricas que, de acordo com a teoria de Flory, tem um efeito negativo na absorção da água^{17, 80, 81}. Há relatos ainda de que com maiores quantidades de POSS na composição há a uma diminuição na LCST, tanto pelos efeitos elásticos como pela hidrofobicidade adicional conferida pelas cadeias laterais do POSS^{6, 8, 82}.

Outro fator que influencia a temperatura de transição é a composição do meio. Uma vez que o estudo do GI foi realizado em uma solução tampão de fosfato dissódico e ácido cítrico, é possível haver uma interação entre o cátion sódio e o hidrogênio do grupo amida do NIPAm, que impede as ligações de hidrogênio entre o polímero e a água, diminuindo sua temperatura de transição. Mizoguchi et al.⁸³ verificaram a diminuição da LCST em hidrogéis de copolímeros de NIPAm e AA na presença de Cu^{2+} , devido à sua interação com o hidrogênio da amida e consequente diminuição da temperatura de transição. Para o hidrogel contendo 11% de AA, a temperatura de transição foi de, aproximadamente, 22 °C. Com o intuito de comprovar tal hipótese foi realizado um teste de inchamento do NIPAm a 28 °C em solução tampão e em água Milli-Q. O hidrogel que estava em solução tampão de fosfato apresentou um GI de apenas 35%, enquanto o hidrogel que estava na água apresentou GI de

225% (Figura 26), o que demonstra que a presença de sódio na solução diminui a LCST dos hidrogéis.

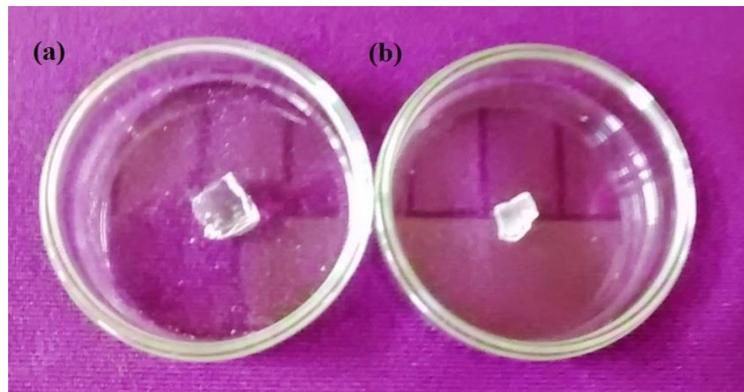


Figura 26. NIPAm após 24 h a 28 °C em (a) água Milli-Q e (b) solução tampão de fosfato.

Na Figura 27 podemos ver as curvas do GI em função da temperatura dos hidrogéis de terpolímeros. O perfil das curvas dos hidrogéis AM1-APMA1-NIPAm1, AM1-APMA1-NIPAm2, AM1-APMA2-NIPAm1 e AM1-APMA4-NIPAm1 são muito parecidos entre si. Inicialmente o GI aumenta com o aumento da temperatura até 45 °C. Em 50 °C vemos que houve uma súbita diminuição da massa de água absorvida pelos materiais.

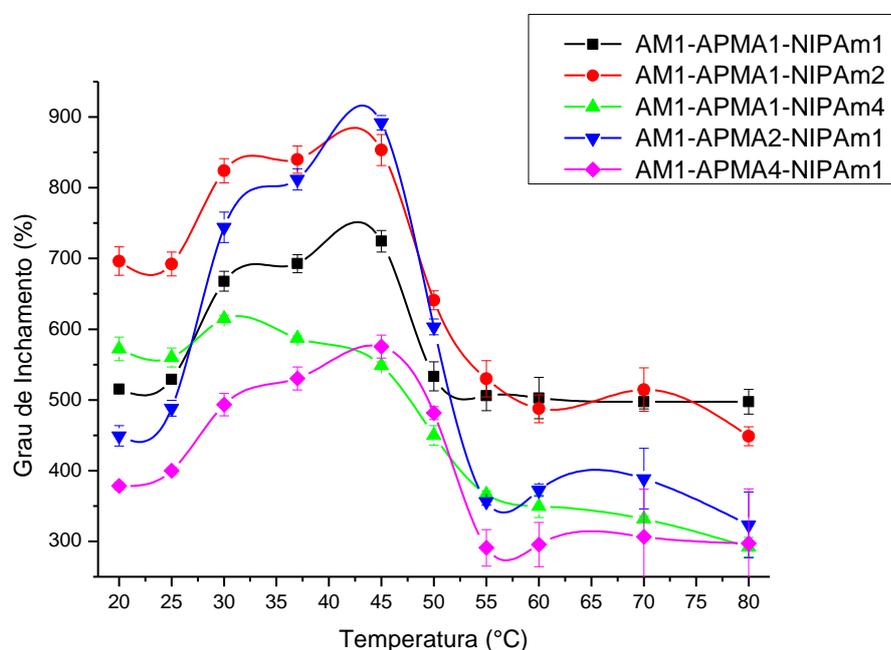


Figura 27. Grau de inchamento em função da temperatura dos hidrogéis de terpolímeros.

Em temperaturas menores que 45 °C o inchamento é regido pelos grupos hidrofílicos e seu comportamento é semelhante ao do hidrogel contendo apenas acrilamida, uma vez que todos os monômeros podem fazer ligações de hidrogênio com os monômeros da cadeia vizinha. Dessa forma, com o aumento da temperatura as ligações de hidrogênio entre as cadeias ficam enfraquecidas permitindo a entrada da água, que por sua vez passa fazer ligações de hidrogênio com os grupos hidrofílicos das cadeias poliméricas aumentando a contribuição osmótica e favorecendo o inchamento^{17, 80, 81}. Quando a temperatura ultrapassa 45 °C as interações hidrofóbicas polímero-polímero passam a ter maior importância, expulsando parte da água e diminuindo o GI. O AM1-APMA1-NIPAm4 que possui maior proporção de NIPAm em sua composição e, portanto, menos grupos hidrofílicos têm uma diminuição no GI já a partir de 30 °C. Para os hidrogéis de terpolímeros, em que o inchamento tem um decaimento tão acentuado quanto no hidrogel de NIPAm puro e mantém um grau de inchamento apreciável mesmo após a transição, a temperatura de transição foi determinada como sendo o ponto médio entre o inchamento máximo e o mínimo⁸⁴. Os valores da temperatura de transição para cada um dos hidrogéis de terpolímeros estão listados na Tabela 7.

Tabela 7. Temperatura de transição dos hidrogéis de terpolímeros

Amostra	LCST (°C)
AM1-APMA1-NIPAm1	50,0
AM1-APMA1-NIPAm2	49,5
AM1-APMA1-NIPAm4	48,5
AM1-APMA2-NIPAm1	49,5
AM1-APMA4-NIPAm1	51,0

O GI é resultado do equilíbrio entre a pressão osmótica, que está relacionada à hidrofiliabilidade dos polímeros, e à força elástica da rede reticulada, que está relacionada com o grau de reticulação do material. Uma vez que cada hidrogel tem diferentes proporções entre os diferentes monômeros e esses monômeros apresentam diferentes reatividades entre si e com o agente reticulante, foram observados inchamentos muito diferentes para cada um dos hidrogéis. O GI em função da temperatura foi determinado em pH 7,4, de forma que não há ionização do monômero catiônico, não tendo, portanto, dependência com o grau de ionização das cadeias.

Em temperaturas menores os maiores grau de inchamento foram verificados para os hidrogéis contendo menores quantidades de APMA e AM (no máximo 33,33%), assim esse fator pode ser atribuído a menor disponibilidade do grupo amida do NIPAm, devido ao estéreo impedimento causado pelo grupo lateral volumoso, para fazer ligações de hidrogênio com suas cadeias adjacentes e permitindo uma maior entrada de água entre as cadeias. O AM1-APMA1-NIPAm2 apresentou um maior grau de inchamento do que o AM1-APMA1-NIPAm4 por ser de forma geral mais hidrofílico. Conforme a temperatura foi aumentando, as diferentes composições apresentaram balanços entre as interações hidrofílicas e hidrofóbicas, causadas pelas grandes diferenças na hidrofiliicidade dos monômeros e nas diferentes disponibilidades dos grupos hidrofílicos e hidrofóbicos para interagir com as cadeias de polímeros adjacentes, além de grandes variações nas proporções entre os monômeros.

Os graus de inchamento mais discrepantes estão entre os hidrogéis AM1-APMA2-NIPAm1 e AM1-APMA4-NIPAm1. Para tentar entender esse comportamento é preciso analisar a estrutura do monômero APMA (Figura 5), que é constituinte majoritário de ambos os hidrogéis. Ele é um monômero 1,1 dissubstituído que apresenta tanto grupos hidrofílicos como hidrofóbicos. Possui uma amina secundária e uma amina primária, ambos os grupos capazes de fazer ligações de hidrogênio tanto com a água como com as cadeias poliméricas adjacentes. Possui também uma metila ligada ao carbono um e uma cadeia alifática entre os grupos amida e amina. O fato de não ter sido possível sintetizar um hidrogel contendo 100% APMA nas condições de síntese dos demais hidrogéis nos mostra que a reatividade desse monômero com o agente reticulante é bastante baixa, de forma que podemos esperar que os hidrogéis com maior quantidade de APMA tenham menor grau de reticulação.

Portanto, espera-se que esses dois hidrogéis tenham um menor grau de reticulação do que os demais, o que pode ser comprovado pelo menor resíduo apresentado na análise de TGA, com um menor empacotamento das cadeias poliméricas devido à cadeia lateral longa, o que facilita a entrada da água entre as cadeias. Entretanto, o APMA age também como um monômero hidrofóbico, principalmente em pH neutro e temperaturas maiores. Dessa forma, o AM1-APMA2-NIPAm1 que contem 25% de acrilamida, que é o monômero mais hidrofílico, é mais hidrofílico do que o AM1-APMA4-NIPAm1 e, portanto, apresenta um maior grau de inchamento.

O GI em função da temperatura também foi estudado nos hidrogéis de copolímeros e é apresentado na Figura 28. Pode-se observar que os hidrogéis copolímeros apresentam uma

transição de fase contínua de segunda ordem e uma maior sensibilidade a temperatura do que os hidrogéis de terpolímeros. Essa maior sensibilidade à temperatura era esperada, uma vez que eles contêm majoritariamente o monômero termossensível NIPAm e, portanto, menos grupos hidrofílicos. Além do mais, a sensibilidade foi diminuindo com o aumento da quantidade de APMA na composição. Quanto maior a quantidade de APMA maior é o GI, uma vez que a cadeia possui maior quantidade de grupos hidrofílicos, e menor é a diferença entre o GI na faixa DE 70 e 20 °C, pois a inserção mais grupos hidrofílicos aumenta a contribuição osmótica, competindo com as interações hidrofóbicas, favorecendo a expansão^{18, 81}. A Tabela 8 mostra as temperaturas de transição dos hidrogéis de copolímeros.

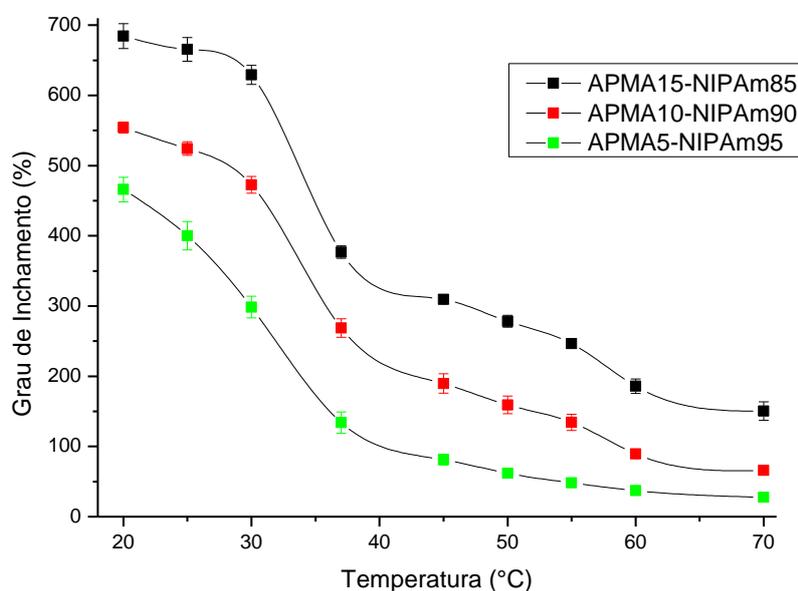


Figura 28. Grau de inchamento em função da temperatura dos hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85

Tabela 8. Temperatura de Transição do Hidrogéis de Copolímeros

LCST	Temperatura (°C)
APMA5-NIPAm95	35,5
APMA10-NIPAm90	35,0
APMA15-NIPAm85	32,0

O aumento na LCST observado tanto para os hidrogéis de copolímeros quanto para os hidrogéis de terpolímeros em relação ao hidrogel de NIPAm puro é explicado devido o

aumento na hidrofiliçidade do hidrogel^{2, 53}, uma vez que é necessária uma temperatura maior para tornar as interações entre os grupo hidrofóbicos da cadeia dominantes em relação às interações entre os grupos hidrofílicos e a água.

O aumento na temperatura de transição com o aumento da quantidade de grupos hidrofílicos foi amplamente observada na literatura. Dong e Hoffman²⁹ sintetizaram hidrogéis termossensíveis a base de NIPAm e AM e também perceberam que com o aumento da quantidade de AM na composição elevou a LCST e diminuiu o GI em função da temperatura de forma menos acentuada. Gao et al.⁵³ estudaram as mudanças na LCST a diferentes valores de pH para copolímeros de NIPAm com ácido acrílico, β -metacrilato de metila, β -metacrilato de etila e β -metacrilato de propila e perceberam que a temperatura de transição diminuía com o aumento do grupos alquil da cadeia lateral, variando entre 37 e 33 °C para pH 5.

A sensibilidade dos hidrogéis ao pH do meio foi estudada em soluções tampão com pH variando 2,2 a 8,0 a 37 °C. A Figura 29 mostra o gráfico do GI em função do pH para os hidrogéis de homopolímeros AM e NIPAm e para os hidrogéis de terpolímeros AM1-APMA1-NIPAm1, AM1-APMA1-NIPAm2, AM1-APMA1-NIPAm4, AM1-APMA2-NIPAm1 e AM1-APMA4-NIPAm1.

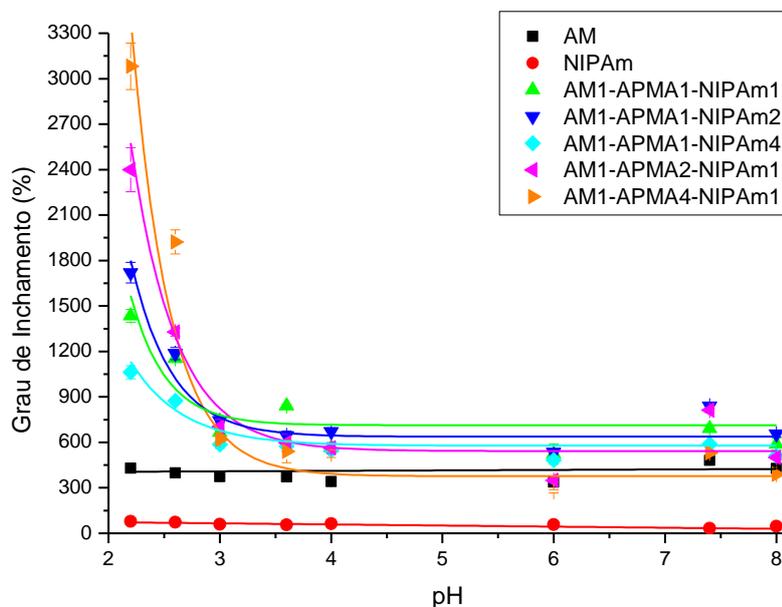


Figura 29. Grau de Inchamento em função do pH dos hidrogéis de terpolímeros.

Podemos observar que os hidrogéis AM e NIPAm, por se tratarem de hidrogéis neutros na faixa de pH estudado, não apresentaram quaisquer variações em seu GI em função do pH. Assim, seu inchamento é função apenas do equilíbrio entre as interações hidrofílicas e hidrofóbicas e da força elástica da cadeia¹⁸. Uma vez que o teste foi realizado acima da temperatura de transição do NIPAm, o mesmo apresentou graus de inchamento bastante baixos em relação aos demais hidrogéis.

Os hidrogéis de terpolímeros, os quais contém o monômero catiônico APMA em sua composição, apresentaram boa sensibilidade ao pH externo, com grandes variações do GI em função do pH e da composição. Em valores de pH abaixo do pK_b do APMA, que está em aproximadamente 3,6, o grupamento amida da cadeia lateral é protonado gerando repulsão eletrostática entre as cadeias poliméricas e conseqüentemente aumentando a expansão. Com o aumento no grau de ionização também aumenta a repulsão entre as cargas e assim a hidrofiliicidade do material. Esse aumento na hidrofiliicidade contribui com o aumento da força osmótica que é favorável ao inchamento e promove uma maior absorção de água^{17, 81}. Os hidrogéis com maiores quantidades de APMA apresentaram os maiores graus de inchamento em pH inferior a 3,6.

A Figura 30 mostra o GI em função do pH para os hidrogéis de copolímeros. Esses materiais se mostraram menos sensíveis as mudanças de pH, uma vez que possuem uma proporção menor de monômero catiônico em sua composição. Mas ainda assim tiveram variações significativas na expansão na faixa de pH que vai de 2,2 a 4,0.

Percebemos que GI foi maior quanto maior a quantidade de APMA na composição para toda a faixa de pH estudada, porque hidrogéis com mais APMA são mais hidrofílicos mesmo quando o grupamento amida não está ionizado. Vemos ainda que maiores quantidades de monômero catiônico provocam maiores variações no GI em pH ácido. As variações entre o GI em pH 2,2 e em pH 4,0 podem ser utilizadas para avaliar a sensibilidade ao pH e são mostradas na Tabela 9 para cada uma dos hidrogéis sintetizados. Vemos que as maiores variações no GI ocorrem para as amostras com maiores quantidades de APMA.

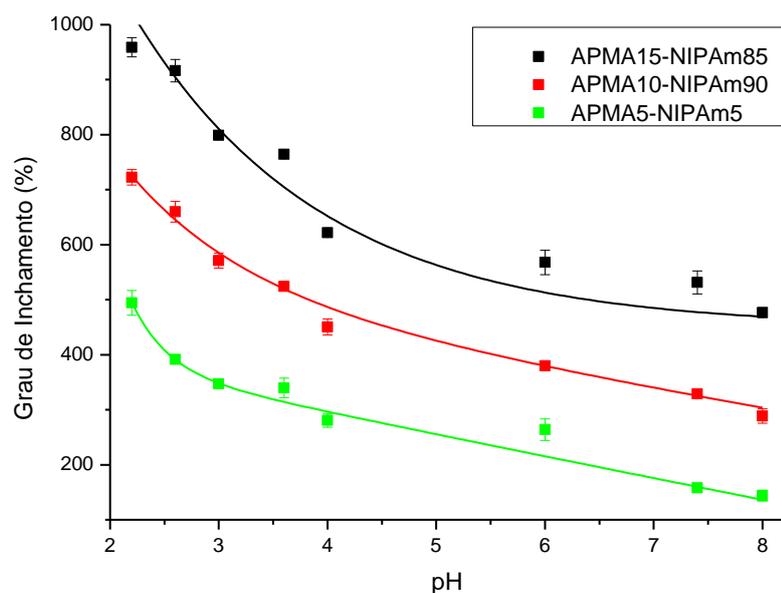


Figura 30. Grau de Inchamento em função do pH para os hidrogéis APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85.

Tabela 9. Variações no GI na faixa de pH de 2,2 a 4,0 e quantidades de monômero APMA em cada amostra.

Amostra	% Nominal de APMA	Δ GI (pH 2,2-4)
AM1-APMA1-NIPAm1	33,3	871% \pm 74
AM1-APMA1-NIPAm2	25,0	1048% \pm 91
AM1-APMA1-NIPAm4	16,7	521% \pm 60
AM1-APMA2-NIPAm1	50,0	2352% \pm 180
AM1-APMA4-NIPAm1	66,7	2542% \pm 177
APMA5-NIPAm95	5,0	215% \pm 35
APMA10-NIPAm90	10,0	280% \pm 28
APMA15-NIPAm85	15,0	340% \pm 21

Grande parte dos artigos publicados que se propõem a sintetizar hidrogéis de copolímeros termo e pH sensíveis utilizam monômero aniônicos e dessa forma o ganho no GI devido à ionização dos grupos laterais se dá em valores de pH acima de 5,5, como no caso de copolímeros utilizando ácido acrílico^{52, 56, 60, 85, 86}. Esses sistemas seguem o mesmo princípio que os hidrogéis catiônicos. Maiores quantidades de AA proporcionam maiores graus de

inchamento em pH acima do pK_a . Gao et al.⁵³ perceberam que a LCST é fortemente influenciada pelo pH do meio, sendo ela menor para valores de pH abaixo do pK_a do ácido carboxílico, ou seja, quando não há ionização do grupo lateral. De forma que o hidrogel contendo 10% de β -metacrilato de metila apresentou uma temperatura de transição de 32°C em pH 1 e de 35°C em pH 7, uma vez que a ionização das cadeias laterais aumenta a hidrofiliabilidade do hidrogel aumentando sua temperatura de transição. Sendo que os materiais sintetizados nesse trabalho apresentam um maior GI na faixa de pH de 2,2 a 3,6 e portanto seriam apropriados para liberação de fármacos em pH ácidos como o do estômago seria interessante avaliar futuramente a LCST em pH 3, uma vez que nesse pH o LCST dos hidrogéis de copolímeros pode aumentar e chegar a valores mais próximos a temperatura corpórea.

Os trabalhos que utilizam monômeros catiônicos na produção de hidrogéis de copolímeros empregam, em sua grande maioria, o monômero N-N-dimetilamino etil-metacrilato (DMAEMA), que se trata de uma amida terciária pH e termo responsiva. Nesse caso, na temperatura ambiente, o GI deste hidrogel é máximo em pH 2 e tem uma transição em pH 8^{55, 63}. Zang et al.⁸ obtiveram hidrogéis termo e pH sensíveis baseados em NIPAm e DMAEMA utilizando octavinil POSS como reticulante, onde foram variadas as proporções de POSS e de NIPAm. Eles perceberam que a quantidade de POSS tem grande influência sobre o GI, a LCST e a estabilidade térmica dos hidrogéis. O hidrogel que apresentou o maior GI e a maior sensibilidade à temperatura foi aquele contendo 4% de reticulante POSS. Os materiais sintetizados apresentaram LCST na faixa de 41 a 34°C e GI máximo em pH 2, o qual foi maior para hidrogéis contendo maiores quantidades de DMAEMA.

5.6 CITOTOXICIDADE

Os testes de citotoxicidade foram realizados usando, como controle positivo para morte celular, células L929 em meio contendo 10% de DMSO e, como controle negativo, células L929 em meio. A partir das análises realizadas foi constatada morte celular significativa quando comparados os grupos positivos e hidrogéis em relação ao controle negativo. A viabilidade celular dos materiais em porcentagem e seus respectivos desvios padrões são apresentados na Tabela 10. Os dados podem ser melhor visualizados em forma de gráfico, que é apresentado na Figura 31 onde se observa a viabilidade celular em relação aos controles, onde o L929 representa 100% de viabilidade.

Podemos observar que as menores taxas de morte celular foram constatadas para os hidrogéis de homopolímeros AM e NIPAm. Ou seja, quando há a introdução do monômero APMA há um aumento na morte celular. Estatisticamente (confiabilidade $P < 0,01$) não há diferenças com relação à morte celular quando comparamos os hidrogéis AM1-AMPA1-NIPAm1, AM1-AMPA1-NIPAm2, AM1-AMPA2-NIPAm1 e AM1-AMPA4-NIPAm1 entre si e ao controle positivo. Já na comparação dos mesmos em relação ao AM1-APMA1-NIPAm4, vemos que esse tem uma menor morte celular que os demais. Ou seja, quando a proporção de APMA atinge 25% não há mais mudanças na viabilidade celular.

Comparando os hidrogéis que apresentam menos do que 25% de APMA na sua composição com a solução de DMSO é constatado que esses apresentam menor morte celular do que o controle positivo. Quando comparamos então o AM1-APMA1-NIPAm4 com os hidrogéis de copolímeros também não são apresentadas mudanças. Também não há mudanças estatísticas nas mostres celular quando os hidrogéis de copolímero são comparados entre si.

Tabela 10. Viabilidade celular das células em contato com os hidrogéis, controle negativo e positivo.

Amostras	Viabilidade Celular (%)	
DMSO	19,95	± 9,60
AM	64,62	± 0,60
NIPAm	71,29	± 9,14
AM1-APMA1-NIPAm1	13,31	± 2,57
AM1-APMA1-NIPAm2	24,08	± 13,07
AM1-APMA1-NIPAm4	52,29	± 3,71
AM1-APMA2-NIPAm1	13,27	± 2,40
AM1-APMA4-NIPAm1	20,48	± 3,73
APMA15-NIPAm85	57,49	± 10,13
APMA10-NIPAm90	46,34	± 4,66
AMPA5-NIPAm95	59,46	± 8,43
L929	100,0	-

Analisando os hidrogéis de AM e NIPAm percebemos que esses apresentam menor morte celular do que o padrão positivo DMSO e maior morte celular do que o padrão negativo

L929. Na comparação entre os dois, AM e NIPAm, não há mudanças significativas na morte celular. Em comparação com os hidrogéis AM1-APMA1-NIPAm4, APMA15-NIPAm85, AMPA10-NIPAm90 e APMA5-NIPAm95 os mesmos não apresentam diferenças estatísticas na morte celular.

A Figura 32 mostra imagens da morfologia das células após 72 horas de incubação de teste. Nas imagens visualiza-se que no controle negativo há uma grande quantidade de células sem a presença de espaços vazios entre elas, 100% de confluência, mas que nos demais meios há a presença de espaços devido à diferentes taxas de morte celular, os quais são maiores para os hidrogéis com quantidades superiores a 25% do monômero APMA.

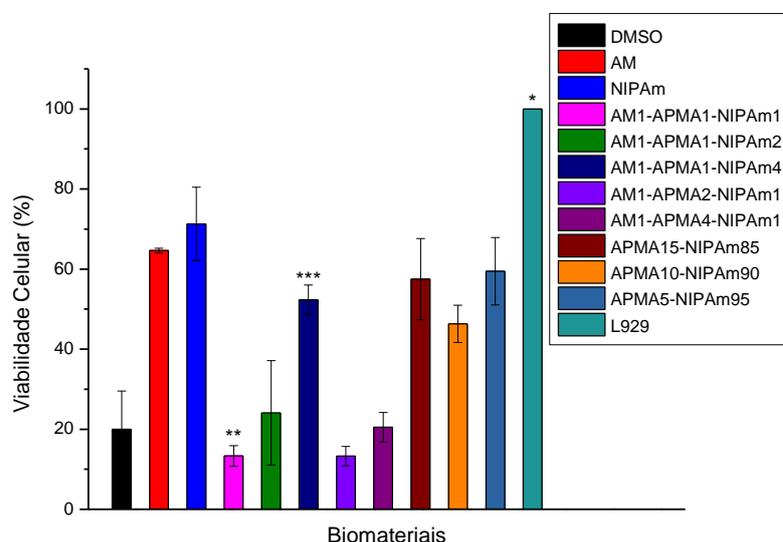


Figura 31. Taxa de morte celular das células L929 após contato direto com os hidrogéis em comparação com os controles negativo L929 e positivo meio com 10% de DMSO.

Uma vez que não há relatos na literatura de que o monômero APMA é citotóxico, é necessário fazer uma análise complementar para avaliar se a citotoxicidade provém de resquícios dos solventes utilizados na síntese desses materiais, uma vez que tanto o THF como o metanol apresentam graus de citotoxicidade. Porque, apesar da lavagem desses materiais para a retirada desses solventes ter sido feita durante quatro dias, a mesma foi realizada a temperatura ambiente. Quando os testes são realizados a 37°C pode haver a liberação dos solventes contidos no interior devido à maior difusividade dos mesmos nessa temperatura.

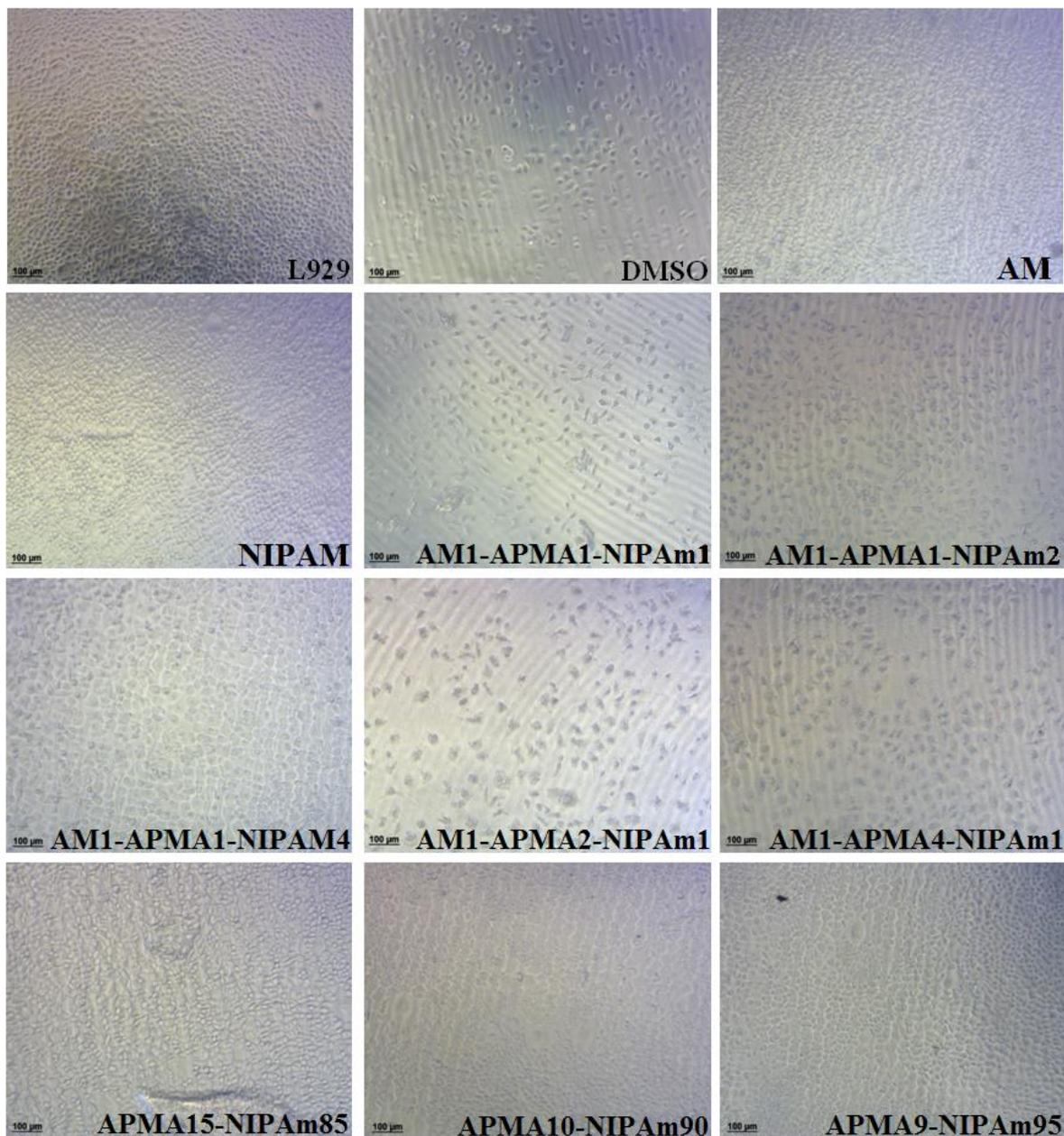


Figura 32. Imagens de microscopia ótica das células L929 após 72 horas em contato com os hidrogéis. Aumento: 100X Barra de escala: 100 µm.

Fazer um teste para avaliar se a citotoxicidade dos solventes é importante porque na literatura há vários relatos sobre os polímeros e copolímeros de NIPAm e AM não apresentaram citotoxicidade^{30, 32, 87}. Gao et al.⁵³ constataram a citotoxicidade de copolímeros de NIPAm com ácido acrílico e seus derivados quando copolimerizados em metanol. Os mesmos copolímeros que não apresentaram citotoxicidade em outros trabalhos que utilizaram outros solventes na síntese. Renò et al.⁸⁸ avaliaram a citotoxicidade de hidrogéis de gelatina e poli(ácido glutâmico) com a presença e POSS e não constataram citotoxicidade, de forma que

é possível afirmar que a citotoxicidade dos hidrogéis sintetizados nesse trabalho não se deve à presença de POSS.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os hidrogéis híbridos baseados em acrilamida, N-isopropilacrilamida e Hidrocloro de N-(3-aminopropil) metacrilamida utilizando o metacril POSS como reticulante foram sintetizados com sucesso e todos, com exceção do hidrogel de APMA puro, apresentaram a rigidez necessária para a utilização requerida. A melhor proporção entre os monômeros e o solvente foi determinada como sendo de 50% e o melhor tempo de reação foi escolhido como sendo de 24 horas.

A incorporação dos três diferentes monômeros foi comprovada pelas técnicas de caracterização de estrutura química FT-IR e RMN-¹H, assim como por TGA onde vemos a presença de diferentes eventos de degradação. A técnica de FT-IR também nos mostra um aumento na banda na região de 1020 cm⁻¹ que é referente à ligação Si-O do reticulante POSS. No caso dos hidrogéis contendo apenas APMA e NIPAm foi possível, inclusive, quantificar a proporção entre os monômeros através da técnica de RMN-¹H.

Os hidrogéis obtidos tiveram graus de inchamento apreciáveis, mesmo quando em pH neutro, chegando a valores de absorção de água próximos dos 900% em massa no caso do hidrogel AM1-APMA2-NIPAm1. Em maior ou menor grau todos os hidrogéis sintetizados apresentaram responsividade em relação à temperatura. Os hidrogéis de terpolímeros apresentaram LCST mais elevadas devido a maior quantidade de grupos hidrofílicos presentes na estrutura, tendo sua transição em valores próximos a 50 °C. No caso dos hidrogéis de copolímeros que não contém acrilamida em sua composição, a LCST ficou em torno de 34 °C, sendo de apenas 31 °C quando a incorporação de APMA foi inferior a 10%.

Todos os hidrogéis obtidos também apresentaram sensibilidade ao pH do meio, sendo essa sensibilidade maior para os hidrogéis de terpolímeros que contêm maiores quantidades do monômero ionizável APMA. Foi observado também que o grau de inchamento no equilíbrio, em pH ácido, foi maior quanto maior a proporção de APMA na composição, devido à repulsão entre as cargas das cadeias laterais protonadas. O pH de transição, ou seja, onde inicia a protonação dos grupos amina foi determinado como sendo próximo a 3,6.

Apesar de não terem sido realizados testes específicos para a avaliação das propriedades mecânicas dos hidrogéis sintetizados, a diferença na facilidade de manutenção dos hidrogéis contendo AM dos que não contém é notável. Os hidrogéis que não contém AM

em sua composição esfarelam e quebram durante seu manuseio, enquanto o mesmo não acontecia com os hidrogéis de terpolímeros.

Os hidrogéis obtidos foram testados quanto à citotoxicidade e foi observado que todos os materiais apresentaram citotoxicidade, uma vez que todos eles apresentaram maior morte celular do que o controle L929. A viabilidade celular foi maior para os hidrogéis de homopolímeros de acrilamida e NIPAm e diminuiu drasticamente na presença de APMA. Entre os materiais contendo 33,3%, 50% e 66,7% de APMA não houve diferenças estatísticas na morte celular, tendo atingindo um máximo de 90%. Com isso, há necessidade de testes complementares para avaliar se a citotoxicidade é proveniente do monômero APMA ou de resíduos dos solventes THF e metanol utilizados na síntese.

7 CONCLUSÕES

Foi possível determinar uma metodologia para a síntese dos novos hidrogéis termo e pH sensíveis utilizando o metacril POSS como agente reticulante, de forma que os hidrogéis foram obtidos com sucesso. A incorporação dos três monômeros assim como a do POSS foi comprovada através das técnicas de FT-IR, RMN-¹H e TGA. Através dos testes de inchamento em função do pH e da temperatura foi comprovada a responsividade dos hidrogéis sintetizados a ambos os estímulos. As variações no grau de inchamento chegaram a mais de 2000% com as mudanças no pH e 500% com as mudanças na temperatura. Entretanto, os hidrogéis obtidos apresentaram citotoxicidade, onde a viabilidade celular se mostrou dependente da composição tanto do hidrogel como do meio reacional.

8 PERSPECTIVAS

O presente trabalho serviu como base o desenvolvimento de hidrogéis sensíveis a mudanças de pH e temperatura. As perspectivas desse trabalho referem-se ao aprimoramento das composições dos hidrogéis sintetizados, ajustando as proporções entre os monômeros utilizados, a fim de aperfeiçoar a temperatura de transição dos hidrogéis obtidos, deixando-a mais próxima à temperatura corporal, mantendo a sensibilidade ao pH. Além de determinar as temperaturas de transição dos mesmos em diferentes valões de pH, para possíveis aplicações em meios ácidos, que é onde esses hidrogéis apresentam maior grau de inchamento.

É de interesse também, estudar a cinética de inchamento e desinchamento dos hidrogéis em diferentes valores de pH e temperatura, afim de avaliar a rapidez com a qual os hidrogéis são capazes de responder a esses estímulos.

Quanto ao uso dos materiais obtidos na área das ciências farmacêuticas, é importante avaliar a utilização de solventes atóxicos na síntese dos hidrogéis para, então, fazer novos testes de citotoxicidade. Uma vez feita essa avaliação, é importante estudar sua aplicabilidade como sistemas de liberação controlada de fármacos. Para tanto é necessário fazer testes de liberação utilizando fármacos modelos que possuam diferentes polaridades. Isso possibilita avaliar a velocidade da liberação e qual o melhor tipo de fármaco a ser utilizado com esse sistema específico.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Peppas, N. A.; *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **1997**, 2.
2. Qiu, Y.; Park, K.; *Advanced Drug Delivery Reviews* **2012**, 64, Supplement.
3. Kim, S. W. In *Advanced Biomaterials in Biomedical Engineering and Drug Delivery Systems*, N, O.; W, K. S.; J, F.; T, O., (Edt); Springer: Tokyo, 1996; 125-133.
4. Bae, Y. H.; Okano, T.; Hsu, R.; Kim, S. W.; *Die Makromolekulare Chemie, Rapid Communications* **1987**, 8.
5. Gupta, P.; Vermani, K.; Garg, S.; *Drug Discovery Today* **2002**, 7.
6. Mu, J.; Zheng, S.; *Journal of Colloid and Interface Science* **2007**, 307.
7. Wang, J.; Sutti, A.; Wang, X.; Lin, T.; *Soft Matter* **2011**, 7.
8. Zhang, X.; Li, C.; Hu, Y.; Liu, R.; He, L.; Fang, S.; *Polymer International* **2014**.
9. Slaughter, B. V.; Khurshid, S. S.; Fisher, O. Z.; Khademhosseini, A.; Peppas, N. A.; *Advanced Materials* **2009**, 21.
10. Watanabe, J.; Kiritoshi, Y.; Nam, K. W.; Ishihara, K. In *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*, 2^o ed.; (Edt); Informa Healthcare: Tokyo, Japan, 2008;
11. Cassano, R.; Trombino, S.; Muzzalupo, R.; Tavano, L.; Picci, N.; *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2009**, 72.
12. Ismail, H.; Irani, M.; Ahmad, Z.; *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* **2012**, 62.
13. Ratner, B. D.; Hoffman, A. S.; Schoen, F. J.; Lemons, J. E.; *Biomaterial Science - An Introduction to Materials in Medicine*. . Academic Press: San Diego, California, USA, 1996; p.
14. Andrade, C. T.; Continho, F. M. B.; Dias, M. L.; Lucas, E. F.; Tabak, D.; *Dicionário de Polímeros Interciência*: Rio de Janeiro, 2001; p.
15. Barbucci, R.; *Hidrogéis: Biological and Applications*. Springer: Milan, 2009; p 15-20.
16. Rasia, G. M. Síntese e Funcionalização de Hidrogéis de Poli(Álcool Vinílico). Univeridade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
17. Yui, N.; Mrsny, R. J.; Parl, K.; *Reflexive Polymers and Hydrogels: Understanding and Designing Fast Responsive Polymeric Systems*. CRC Press LLC: USA, 2005; p.
18. Silva, F. P. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE POLI[(N-ISOPROPILACRILAMIDA)-CO-(ÁCIDO METACRÍLICO)] E SUA APLICAÇÃO COMO

19. Jr., L. V. A.; Popovich, N. G.; Ansel, H. C.; *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*. 8 ed.; Artmed: Porto Alegre, 2007; p.
20. Kost, J.; Langer, R.; *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, 46.
21. Liechty, W. B.; Kryscio, D. R.; Slaughter, B. V.; Peppas, N. A.; *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering* **2010**, 1.
22. Ranade, V. V.; Hollinger, M. A. In *Drug Delivery Systems*, (Edt); CRC PRESS: Florida, USA, 2004; 58-109.
23. Netz, P. A.; Dorfmuller, T.; *Journal of Chemical Physics* **1997**, 107.
24. Kwei, T. K.; Wang, T. T.; Zupko, H. M.; *Macromolecules* **1972**, 5.
25. Tanaka, T.; *Physical Review Letters* **1978**, 40.
26. Hirokawa, Y.; Tanaka, T.; *The Journal of Chemical Physics* **1984**, 81.
27. Kataoka, K.; Miyazaki, H.; Bunya, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120.
28. Ishihara, K.; Nomura, H.; Mihara, T.; Kurita, K.; Iwasaki, Y.; Nakabayashi, N.; *Journal of Biomedical Materials Research* **1998**, 39.
29. Liang-chang, D.; Hoffman, A. S.; *Journal of Controlled Release* **1986**, 4, 223.
30. Vihola, H.; Laukkanen, A.; Valtola, L.; Tenhu, H.; Hirvonen, J.; *Biomaterials* **2005**, 26.
31. Fan, X.; Nosov, M.; Carroll, W.; Gorelov, A.; Elvira, C.; Rochev, Y.; *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2014**, 102.
32. Wang, H.; Ke, F.; Mararenko, A.; Wei, Z.; Banerjee, P.; *Nanoscale* **2014**, 6, 7443.
33. Cao, Z.; Chen, T.-y.; Guo, X.-l.; Zhou, X.-j.; Nie, J.-j.; Xu, J.-t.; Fan, Z.-q.; Du, B.-y.; *Chin J Polym Sci* **2011**, 29.
34. Kohori, F.; Sakai, K.; Aoyagi, T.; Yokoyama, M.; Yamato, M.; Sakurai, Y.; Okano, T.; *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **1999**, 16.
35. Hebeish, A.; Farag, S.; Sharaf, S.; Shaheen, T. I.; *Carbohydrate Polymers* **2014**, 102.
36. Coughlan, D. C.; Quilty, F. P.; Corrigan, O. I.; *Journal of Controlled Release* **2004**, 98.
37. Coughlan, D. C.; Corrigan, O. I.; *International Journal of Pharmaceutics* **2006**, 313.

38. Chun, S.-W.; Kim, J.-D.; *Journal of Controlled Release* **1996**, 38.
39. Xu, F.; Zhang, B.-X.; Luo, Y.-L.; *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2014**, 24.
40. Peppas, N. A.; Klier, J.; *Journal of Controlled Release* **1991**, 16, 203.
41. Qu, J. B.; Chu, L. Y.; Yang, M.; Xie, R.; Hu, L.; Chen, W. M.; *Advanced Functional Materials* **2006**, 16.
42. Schmaljohann, D.; *Advanced Drug Delivery Reviews* **2006**, 58.
43. Siegel, R. A.; Falamarzian, M.; Firestone, B. A.; Moxley, B. C.; *Journal of Controlled Release* **1988**, 8.
44. Patel, V.; Amiji, M.; *Pharm Res* **1996**, 13.
45. Xue, Y.; Wang, L.; Shao, Y.; Yan, J.; Chen, X.; Lei, B.; *Chemical Engineering Journal* **2014**, 251.
46. Ghandehari, H.; Kopečková, P.; Kopeček, J.; *Biomaterials* **1997**, 18.
47. Akala, E. O.; Kopečková, P.; Kopeček, J.; *Biomaterials* **1998**, 19.
48. Bilia, A.; Carelli, V.; Di Colo, G.; Nannipieri, E.; *International Journal of Pharmaceutics* **1996**, 130.
49. Carelli, V.; Coltelli, S.; Di Colo, G.; Nannipieri, E.; Serafini, M. F.; *International Journal of Pharmaceutics* **1999**, 179.
50. Vetrik, M.; Hruby, M.; Pradny, M.; Michalek, J.; *Polymer Degradation and Stability* **2011**, 96.
51. JINDRICH, K.; RUSSELL, S.; KARIN, C.; CHUNG, W.; CHIH-HU, H. HYDROGELS OF WATER SOLUBLE POLYMERS CROSSLINKED BY PROTEIN DOMAINS 19/06, 1999.
52. Tsai, M.-C.; Shih, C.-M.; Lue, S.; *Polym. Bull.* **2013**, 70.
53. Gao, X.; Cao, Y.; Song, X.; Zhang, Z.; Xiao, C.; He, C.; Chen, X.; *Journal of Materials Chemistry B* **2013**, 1.
54. Fundueanu, G.; Constantin, M.; Asmarandei, I.; Harabagiu, V.; Ascenzi, P.; Simionescu, B. C.; *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2013**, 101A.
55. Orakdogan, N.; *Macromol. Res.* **2014**, 22.
56. Chen, G.; Hoffman, A. S.; *Nature* **1995**, 373, 49.

57. Kaneko, Y.; Sakai, K.; Kikuchi, A.; Yoshida, R.; Sakurai, Y.; Okano, T.; *Macromolecules* **1995**, 28.
58. Liu, Q.; Zhang, P.; Lu, M.; *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2005**, 43.
59. Lee, S. B.; Ha, D. I.; Cho, S. K.; Kim, S. J.; Lee, Y. M.; *Journal of Applied Polymer Science* **2004**, 92.
60. Zhang, J.; Chu, L.-Y.; Li, Y.-K.; Lee, Y. M.; *Polymer* **2007**, 48.
61. Zhang, X.-Z.; Yang, Y.-Y.; Chung, T.-S.; Ma, K.-X.; *Langmuir* **2001**, 17, 6094.
62. Zhang, X.-Z.; Yang, Y.-Y.; Wang, F.-J.; Chung, T.-S.; *Langmuir* **2002**, 18, 2013.
63. Zhang, J.; Xie, R.; Zhang, S.-B.; Cheng, C.-J.; Ju, X.-J.; Chu, L.-Y.; *Polymer* **2009**, 50.
64. Cai, H.; Zhang, Z. P.; Chuan Sun, P.; Lin He, B.; Xia Zhu, X.; *Radiation Physics and Chemistry* **2005**, 74.
65. Moura, M. R. d.; Rubira, A. F.; Muniz, E. C.; *Polímeros* **2008**, 18.
66. Rubira, A. F.; Muniz, E. C.; Guilherme, M. R.; Paulino, A. T.; Tambourgi, E. B.; *Polímeros* **2009**, 19.
67. Liang-chang, D.; Qi, Y.; Hoffman, A. S.; *Journal of Controlled Release* **1992**, 19.
68. Haraguchi, K.; *Current Opinion in Solid State and Materials Science* **2007**, 11.
69. Kuo, S.-W.; Chang, F.-C.; *Progress in Polymer Science* **2011**, 36.
70. Morita, T.; Assumpção, R. M. V. In *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes*, 2^o ed.; (Edt); Edgard Blücher: São Paulo, 1986; 267-306.
71. Stuart, B.; *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Ltd: 2004; p 71-93.
72. Zhang, J.; Peppas, N. A.; *Journal of Applied Polymer Science* **2001**, 82.
73. Rajamohanam, P. R.; Ganapathy, S.; Ray, S. S.; Badiger, M. V.; Mashelkar, R. A.; *Macromolecules* **1995**, 28, 2533.
74. deshmuKh, M. V.; Vaidya, A. A.; Kulkarni, M. G.; Rajamohanam, P. R.; Ganapathy, S.; *Polymer* **2000**, 41.
75. Tokuhiko, T.; Amiya, T.; Mamada, A.; Tanaka, T.; *Macromolecules* **1991**, 24.
76. Sun, P.; Li, B.; Wang, Y.; Ma, J.; Ding, D.; He, B.; *European Polymer Journal* **2003**, 39.

77. Zeng, K.; Fang, Y.; Zheng, S.; *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **2009**, 47.
78. Kulkarni, R. V.; Boppana, R.; Krishna Mohan, G.; Mutalik, S.; Kalyane, N. V.; *Journal of Colloid and Interface Science* **2012**, 367.
79. Kim, K.-M.; Chujo, Y.; *Journal of Materials Chemistry* **2003**, 13, 1384.
80. Magalhães, A. S. G. Síntese e Caracterização de Hidrogéis Superabsorventes à Base de Acrilamida e Acrilato de Sódio. Universidade Federal do Ceará Fortaleza, Brasil, 2009.
81. Ganji, F.; Vasheghani-Farahani, S.; Vasheghani-Farahani, E.; *Iranian Polymer Journal* **2010**, 19, 375.
82. Wang, J.; Hurren, C.; Sutti, A.; Lin, T.; Wang, X. In *Thermo-responsive PNIPAM nanofibres crosslinked by OpePOSS*, 2013; 2013; pp 879318-879318-5.
83. Mizoguchi, K.; Ida, J.; Matsuyama, T.; Yamamoto, H.; *Separation and Purification Technology* **2010**, 75.
84. Constantin, M.; Cristea, M.; Ascenzi, P.; Fundueanu, G.; *eXPRESS Polymer Letters* **2011**, 5, 839.
85. Samah, N. H. A.; Heard, C. M.; *International Journal of Pharmaceutics* **2013**, 453.
86. Zhang, J.; Chu, L.-Y.; Cheng, C.-J.; Mi, D.-F.; Zhou, M.-Y.; Ju, X.-J.; *Polymer* **2008**, 49.
87. Pollock, J. F.; Healy, K. E.; *Acta Biomaterialia* **2010**, 6, 1307.
88. Renò, F.; Carniato, F.; Rizzi, M.; Marchese, L.; Laus, M.; Antonioli, D.; *Journal of Applied Polymer Science* **2013**, 129.

10 ANEXOS

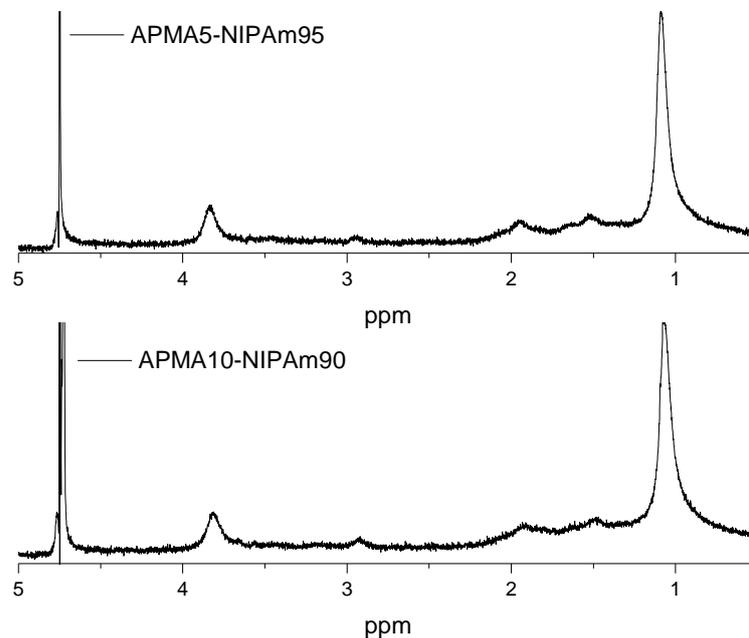


Figura 33. Espectro do RMN dos hidrogéis APMA5-NIPAm95 e APMA10-NIPAm90

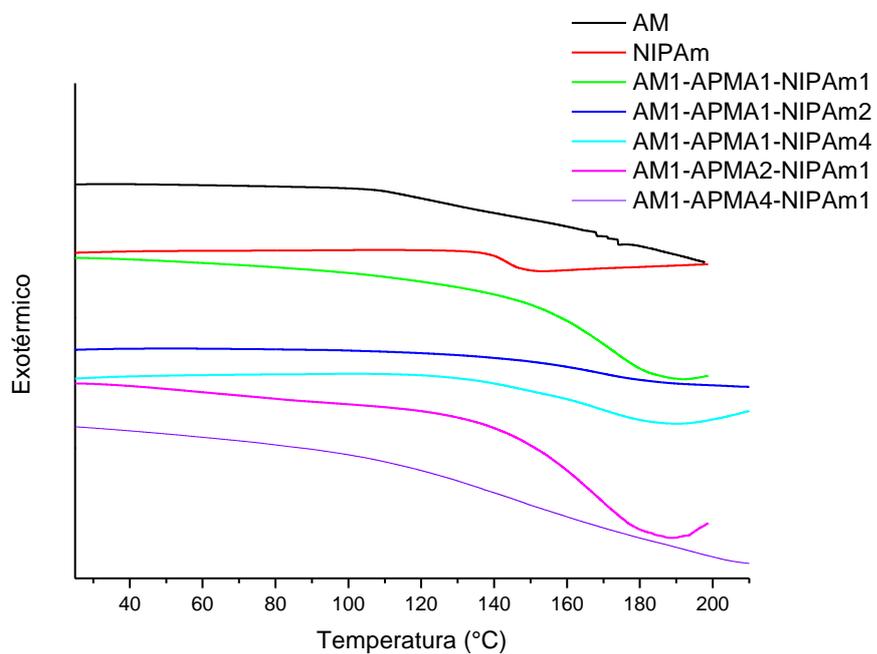


Figura 34. Espectro de FR-TR dos hidrogéis AM1-APMA1-NIPAm1, AM1-APMA1-NIPAm2, AM1-APMA1-NIPAm4, AM1-APMA2-NIPAm1 e AM1-APMA4-NIPAm1

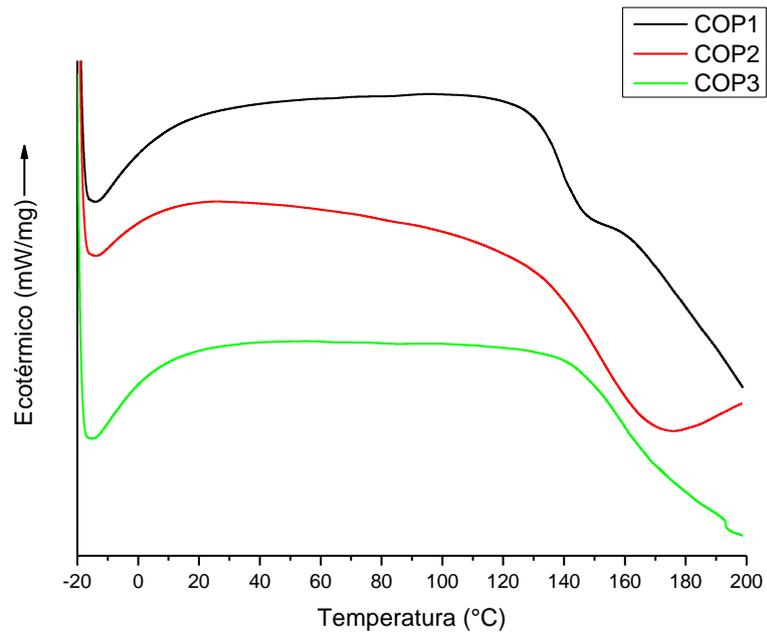


Figura 35. Figura 19. Curvas de DSC dos hidrogéis de copolímeros APMA5-NIPAm95, APMA10-NIPAm90 e APMA15-NIPAm85