

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
Escola de Engenharia  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais  
PPGE3M

**RECOBRIMENTO DE STENTS METÁLICOS COM HIDROGÉIS PARA LIBERAÇÃO  
CONTROLADA DE FÁRMACO**

**Tese para obtenção do título de Doutora em Engenharia**

Caroline Pigatto

Porto Alegre

2019

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
Escola de Engenharia  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais  
PPGE3M

**RECOBRIMENTO DE STENTS METÁLICOS COM HIDROGÉIS PARA LIBERAÇÃO  
CONTROLADA DE FÁRMACO**

Caroline Pigatto, M.Sc.

Trabalho realizado no Departamento de Materiais da Escola de Engenharia da UFRGS, dentro do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGE3M, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia.

Área de Concentração: Ciência e Tecnologia dos Materiais

Porto Alegre

2019

Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do título de Doutora em Engenharia, área de concentração de Ciência e Tecnologia dos Materiais e aprovada em sua forma final, pelo Orientador e pela Banca Examinadora do Curso de Pós-Graduação.

Orientador: Prof. Dr. Luís Alberto dos Santos

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Kétner Bendo Demétrio

Prof. Dra. Franciéli Müller

Prof. Dra. Maria Beatriz Borsa

*“Nós geralmente descobrimos o que fazer percebendo aquilo que não devemos fazer.  
E provavelmente aquele que nunca cometeu um erro nunca fez uma descoberta.”*

*Samuel Smiles*

**AGRADECIMENTOS**

*À minha Família, pelo incentivo, pelo carinho  
e por estarem sempre ao meu lado.*

## Agradecimentos

A todos que colaboraram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho, o meu reconhecimento.

Principalmente ao meu orientador Dr. Luís Alberto dos Santos pela dedicação, paciência, orientação e idealização deste trabalho. O meu agradecimento e admiração pelo profissional que és!

A professora Vânia Caldas Souza, pela amizade e carinho.

Ao professor Pepito (Jose Ramon Jurado Egea), pela amizade e incentivo.

Aos colegas do Laboratório de Biomateriais (LABIOMAT) da Escola de Engenharia da UFRGS, pelos ensinamentos, ajuda e amizade ao longo destes anos. Em especial, aos meus queridos amigos, Julio Cesar Colpo e Nayrim Brizuela por toda a ajuda, diversão e apoio nas horas difíceis.

Aos laboratórios da UFRGS que realizaram alguns ensaios ou facilitaram o uso de equipamentos: Instituto de Química, Lacer, Lacor e Lapol. Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela realização da avaliação *in vitro*.

Gostaria de agradecer ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGE3M, especialmente a Bia pela amizade, pelas palavras de carinho e pela disposição em ajudar sempre que necessitei. Ao CNPq pela bolsa e fomento para realização deste trabalho.

Aos meus amigos, os quais estiveram sempre presentes, muito obrigada pelas palavras de apoio, carinho e pelos momentos de descontração, diversão e risadas: Rosiane Girardi, Gisele Porto, Janise Porto, Rejane Meneghetti, Michele Librelotto, Marcus Weber.

À minha Família, meus pais, Antônio Carlos e Vera Regina (In Memoriam) e meus irmãos Cassiano e Camila, por todo apoio incondicional, por todo incentivo e por estarem sempre ao meu lado. Por compreenderem e respeitarem minhas inquietações e ausências e que mesmo longe estiveram sempre presentes em pensamentos e boas energias.

## RESUMO

A doença arterial coronária em suas diversas manifestações crônicas ou agudas tem se tornado a causa mais comum de mortalidade. É neste cenário, que a intervenção percutânea coronária ou angioplastia coronária, combinada à terapêutica farmacológica, é a modalidade terapêutica mais utilizada para o tratamento da doença coronária. O objetivo deste trabalho foi obter e caracterizar hidrogéis de poli (N-vinil-2-pirrolidona) e poli (N-vinil-2-pirrolidona-co-ácido acrílico) os quais foram dopados com 1% (w/w) hidroxiapatita e dopados com 26,5 mg heparina sódica, visando desenvolver novos stents eluidores de Cr-Co eletropolidos com relativo baixo custo que permitam a liberação controlada de fármacos. As formulações desenvolvidas foram caracterizadas pelas técnicas de Difração de Raios X, Espectroscopia de infravermelho, Microscopia Eletrônica de Varredura. Numa terceira etapa experimental se realizaram testes de liberação de heparina sódica, assim como uma avaliação cinética dos perfis obtidos e posteriormente se realizaram testes de hemólise *in vitro*. Os hidrogéis obtidos com ácido acrílico apresentaram poros de menor tamanho, menor teor de inchamento e, portanto liberam mais lentamente o fármaco, devido à formação dos complexos inter-polímeros que aumentam o grau de reticulação. No estudo de liberação do fármaco e de sua cinética, mostrou-se que o hidrogel compósito com hidroxiapatita foi o sistema mais adequado para a liberação da heparina sódica, pois se obteve uma rápida liberação do fármaco nas primeiras horas sendo um fator importante na escolha do material. Os modelos cinéticos que mais se ajustaram as formulações dos hidrogéis foram Peppas-Shalin e Ritger-Peppas. O hidrogel compósito com hidroxiapatita mostrou que não interferiu na hemostasia fisiológica, sendo um resultado satisfatório para sua futura aplicação.

**Palavras-chave:** Doença coronária, Stents, Hidrogel, Liberação de Fármacos

## ABSTRACT

Coronary artery disease in its various chronic or acute manifestations has become the most common cause of mortality. It is in this scenario that percutaneous coronary intervention or coronary angioplasty, combined with pharmacological therapy, is the most used therapeutic modality for the treatment of coronary disease. The objective of this work was to obtain and characterize poly (N-vinyl-2-pyrrolidone) and poly (N-vinyl-2-pyrrolidone – co – acrylic acid) hydrogels which were doped with 1% (w/w) hydroxyapatite and doped with 26.5 mg sodium heparin, aiming to develop new electropolished Cr-Co eluting stents with relatively low cost that allow controlled drug release. The formulations developed were characterized by X-Ray Diffraction, Infrared Spectroscopy and Scanning Electron Microscopy. In a third experimental stage, tests for the release of sodium heparin were performed, as well as a kinetic evaluation of the profiles obtained, and later *in vitro* hemolysis tests were performed. The hydrogels obtained with acrylic acid showed smaller pores, less swelling content and, therefore, release the drug more slowly, due to the formation of interpolymer complexes that increase the degree of crosslinking. In the study of drug release and its kinetics, it was shown that the composite hydrogel with hydroxyapatite was the most suitable system for the release of sodium heparin, since a quick release of the drug was obtained in the first hours and an important factor in the choice of material. The kinetic models that best fit the hydrogel formulations were Peppas-Shalin and Ritger-Peppas. The hydroxyapatite composite hydrogel showed that it did not interfere with physiological hemostasis, being a satisfactory result for its future application.

Key words: Coronary disease, Stents, Hydrogel, Drug Release

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Artéria coronária parcialmente bloqueada .....	19
Figura 2 - Estrutura da parede arterial .....	20
Figura 3 - Formação da placa de aterosclerose .....	21
Figura 4 – ACTP com balão .....	22
Figura 5 - Ilustração da aplicação de um stent .....	23
Figura 6 - Geometria dos stents .....	26
Figura 7 - Stent Igaki-Tamai bioabsorvível .....	27
Figura 8 - Stent REVA bioabsorvível .....	27
Figura 9 - Stent bioabsorvível terapêutico .....	28
Figura 10 – Estrutura química da Heparina .....	32
Figura 11 - Modelo simplificado da liberação de fármaco .....	35
Figura 12 - Liberação do fármaco de um sistema reservatório (a) e matricial (b) .....	37
Figura 13 - Liberação do fármaco do sistema osmoticamente controlado .....	38
Figura 14 - Degradação do polímero (a) erosão superficial, (b) erosão volumétrica .....	39
Figura 15 - A estrutura hierárquica do osso normal em várias escalas de comprimento...45	
Figura 16 – Fluxograma das etapas desenvolvidas .....	47
Figura 17 - Difratoograma de raios X do pó da hidroxiapatita .....	56
Figura 18 - Espectro de infravermelho da hidroxiapatita .....	57
Figura 19 – Micrografias MEV do pó da hidroxiapatita em aumentos (a) 600x, (b) 1000x, (c) 3000x e (d) 7000x. ....	58
Figura 20 - Granulometria do pó HA .....	59
Figura 21 - Espectro de infravermelho dos hidrogéis .....	61
Figura 22 - Termograma TGA dos hidrogéis .....	63
Figura 23 - Diagramas DMA dos hidrogéis - módulos de armazenamento e de perda em função da variação da frequência.....	64
Figura 24 - Absorção de água dos hidrogéis .....	65
Figura 25 - Micrografias MEV dos hidrogéis: (a) VP, (b) VPAA, (c) VPHA, (d) VPAAHA, (e) VPHAHP e (f) VPAAHAHP .....	67
Figura 26 - Taxa de liberação da heparina sódica .....	69

Figura 27 – Concentração da hemoglobina liberada em função do tempo: hidrogéis e stents (CTRL = poço sem hidrogel; CTRL-STENT = stent sem hidrogel).....	72
Figura 28 - Topografias das superfícies das placas de Cr-Co: antes (a, b, c, d) e após (e, f, g, h) o eletropolimento.....	74
Figura 29 - Topografias em 3D das superfícies das placas de Cr-Co: antes (a, b, c, d) e após (e, f, g, h) o eletropolimento.....	75
Figura 30 – Micrografias da superfície dos stents: (a) stent eletropolido (b) stent comercial.....	75
Figura 31 – Micrografias dos stents eletropolidos: (a) sem revestimento; (b) VPHA e (c) VPHAHP em diferentes aumentos.....	76

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Reestenose: extensão do problema .....	24
Tabela 2 - Principais stents farmacológicos registrados no Brasil (ANVISA) .....	30
Tabela 3 - Interpretação dos mecanismos de liberação através do valor do expoente de liberação.....	41
Tabela 4 - Reagentes utilizados na síntese dos hidrogéis .....	49
Tabela 5 - Composição dos hidrogéis (%) .....	49
Tabela 6 - Distribuição e tamanho médio das partículas do pó de HA .....	59
Tabela 7 - Valores médios do percentual de liberação com os respectivos desvios-padrão .....	69
Tabela 8 - Coeficiente de correlação (r) dos modelos matemático-avaliadas avaliadas até as primeiras 8 horas .....	70
Tabela 9 - Ajustes das equações de Peppas-Shalin e Ritger-Peppas ao término das primeiras 8 horas.....	71
Tabela 10 - Medida da micro e nanorugosidade das placas não eletropolidas e eletropolidas .....	73

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVO.....	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1 BIOMATERIAIS PARA APLICAÇÕES CARDIOVASCULARES .....	18
3.1.1 Doença arterial coronariana ou cardiopatia isquêmica .....	19
3.1.2 Angioplastia coronária transluminal percutânea (ACTP) .....	21
3.2 STENTS.....	24
3.2.1 Stents metálicos (BMS).....	25
3.2.2 Stents poliméricos .....	27
3.2.3 Stents farmacológicos .....	28
3.3 HEPARINA.....	31
3.3.1 Coagulação sanguínea .....	32
3.4 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS.....	34
3.4.1 Sistemas matriciais .....	36
3.4.2 Mecanismos de liberação.....	36
3.4.3 Cinética de liberação controlada .....	40
3.5 Hidrogéis.....	42
3.5.1 Aplicações terapêuticas dos hidrogéis .....	43
3.5.2 Hidroxiapatita .....	45
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	47
4.1 ETAPA 1: Hidroxiapatita e Hidrogéis.....	48
4.2 ETAPA 2: Fármaco .....	50

4.3 ETAPA 3: Avaliação <i>in vitro</i> .....	50
4.4 ETAPA 4: Revestimento dos stents metálicos.....	51
4.5 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO .....	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	56
5.1 ETAPA 1: Caracterização da hidroxiapatita e hidrogéis .....	56
5.2 ETAPA 2: Liberação do fármaco e cinética de liberação .....	67
5.3 ETAPA 3: Avaliação <i>in vitro</i> .....	72
5.4 ETAPA 4: Revestimento dos stents metálicos.....	73
CONCLUSÕES .....	77
SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	79

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo, a doença arterial coronária em suas diversas manifestações crônicas ou agudas tem se tornado a causa mais comum de mortalidade <sup>(1)</sup>. De acordo com a *Heart American Association* <sup>(2)</sup>, em 2006, 4 milhões de mortes nos Estados Unidos foram atribuídas à doença arterial coronária; sendo que o número de pessoas portadoras da doença alcançou a cifra de 16,8 milhões. É neste cenário, que a intervenção percutânea coronária ou angioplastia coronária, combinada à terapêutica farmacológica, é a modalidade terapêutica mais utilizada (estimativa para os Estados Unidos de mais de 1,3 milhões de procedimentos/ano) para o tratamento da doença coronária.

A angioplastia coronária transluminal percutânea (ACTP) é uma prática cardiológica não cirúrgica introduzida em 1977 <sup>(3)</sup> que representou uma revolução no tratamento da isquemia miocárdica decorrente da obstrução dos vasos coronários subepicárdicos. Baseada inicialmente na dilatação do vaso pela insuflação de um balão introduzido por um catéter no local da oclusão, esta técnica é extensivamente utilizada por pacientes que apresentam angina (dor no peito) ou infarto do miocárdio. Um grande avanço na prática da angioplastia resultou da concepção de um dispositivo mecânico destinado a "sustentar" internamente a artéria coronária: o "stent" ou endoprótese coronária, introduzido clinicamente há cerca de 20 anos <sup>(4)</sup>.

Os stents são malhas metálicas expansíveis implantadas por catéteres no interior das artérias obstruídas por processos de aterosclerose. A eficácia comprovada do uso de endopróteses vasculares metálicas como instrumento redutor de complicações agudas e tardias, tem motivado o uso predominante destes dispositivos na grande maioria dos procedimentos coronários percutâneos.

Embora a implantação de stents tenha conseguido resolver em grande parte a reoclusão aguda (retração elástica do vaso em resposta ao trauma causado pela expansão do balão), a reestenose intra-stent <sup>(5)</sup> continua sendo o maior problema clínico após a angioplastia, ocorrendo ainda em cerca de 30% dos pacientes <sup>(6)</sup>. Assim, ainda que a utilização de stents se constitua em um método terapêutico bem estabelecido, há um grande interesse no desenvolvimento de alternativas clínicas que ampliem as aplicações de stents.

Recentemente, stents eluidores de agentes bioativos têm surgido como opção terapêutica para a prevenção da reestenose<sup>(7,8,9,10,11)</sup>. Nesta abordagem, drogas com ação antiproliferativas, antitrombóticas, antiinflamatórias e pró-endoteliais são adicionadas à superfície dos stents em suas formas puras ou incorporadas em matrizes poliméricas. Dessa maneira, o próprio stent passa a ser utilizado como veículo de liberação destes fármacos<sup>(12)</sup>.

O grande avanço da utilização de stents eluidores é a aplicação do fármaco no momento da dilatação mecânica, no local da lesão, com pouco ou nenhum nível sistêmico circulante. Calcula-se que aproximadamente 70% das intervenções cirúrgicas realizadas nos Estados Unidos têm sido levadas a cabo com o uso de stents eluidores de agentes bioativos em oposição aos metálicos tradicionais<sup>(13)</sup>. Portanto, existe um grande interesse atual no desenvolvimento de materiais para recobrimento de stents que possam proporcionar a eluição de drogas, bem como no desenvolvimento de novas matrizes poliméricas que possam ser usadas para a incorporação destas drogas.

A intervenção percutânea coronária ou angioplastia coronária, combinada à terapêutica farmacológica, é a modalidade terapêutica mais indicada para o tratamento da doença coronária, porém a sua aplicação é ainda muito restrita devido ao elevado custo do material. Atualmente a maioria dos stents farmacológicos encontrados no mercado são importados, produzidos por empresas internacionais. Em 2012 foi aprovado pela ANVISA o primeiro stent cardiovascular farmacológico desenvolvido no Brasil, o Inspiron<sup>®</sup>, sendo também o primeiro da América Latina.

Os desafios e a complexidade desta pesquisa requereram uma busca detalhada de informações quanto ao tipo de revestimento, ao fármaco e sua cinética de liberação, técnicas utilizadas para o revestimento e caracterizações. Já existem trabalhos e patentes de stents farmacológicos utilizando revestimentos poliméricos como, por exemplo: poli (álcool vinílico) (PVA), poli (vinilpirrolidona) (PVP), poli (etileno glicol) (PEG), blendas de PVA/PVP/PEG, poliamidas, poli (óxido de etileno) (PEO), poli (ácido acrílico), poli (ácido lático) (PLA) e poli (ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA).

Contudo, a inovação desta pesquisa está na utilização de hidroxiapatita para a obtenção de hidrogéis de compósitos. Essas partículas tem importância primordial para o campo biomédico, pois podem ser misturados em polímeros resultando em um material com propriedades mecânicas superiores, além de ser um material bioativo, com elevada biocompatibilidade. Apresentam também uma alta capacidade de diminuir a morte celular

por apoptose e, conseqüentemente, melhorar a proliferação celular. Além disso, não há até o momento nenhum trabalho e/ou patente utilizando hidrogéis compósitos para recobrimento de stents com liberação de fármaco.

Assim, este trabalho propõe obter hidrogéis compósitos para revestimento em stents metálicos a partir do PVP em sistemas de liberação controlada da heparina sódica. A escolha do PVP com HA se deve as suas principais características de apresentar elevada biocompatibilidade.

## **2. OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi a obtenção e caracterização de recobrimentos de hidrogéis compósitos em stents metálicos, visando desenvolver novos stents que permitam a liberação controlada de fármacos.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 BIOMATERIAIS PARA APLICAÇÕES CARDIOVASCULARES

As doenças cardiovasculares (DCV) lideram os índices de morbidade e mortalidade no Brasil e no mundo <sup>(14)</sup>, sendo a doença arterial coronariana (DAC) a causa de um grande número de mortes e de gastos em assistência médica <sup>(15)</sup>. As DCV foram responsáveis pela morte de 17,3 milhões de pessoas em 2013 (31,5%) em relação as 12,3 milhões em 1990 (25,8%) <sup>(14)</sup>. No Brasil, segundo a Síntese de Indicadores Sociais de 2002, realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), as DCV se destacam como a principal causa de mortes no país (28,8% para homens e 36,9% para mulheres), em todas as regiões e estados <sup>(16)</sup>.

O uso de biomateriais na área cardiovascular de uso permanente inclui as próteses vasculares como: aorta, coronárias e artérias cerebrais devido ao processo de arteriosclerose; pequenos vasos, próteses vasculares (mecânicas e biológicas) para correção de defeitos congênitos ou processos patológicos, tais como a calcificação natural, doenças reumáticas ou infecções bacterianas. Os implantes temporários incluem os oxigenadores, marcapassos, etc. Tais próteses incluem materiais de natureza biológica (pericárdio bovino) ou sintéticos como os polímeros, metais ou ligas metálicas, podendo ou não, serem recobertos com materiais cerâmicos <sup>(17)</sup>.

A importância da introdução destes tipos de implante foi a redução significativa no índice de mortalidade provocado por doenças cardiovasculares que, em 1968, era de 54%, contra apenas 20% em 1990 <sup>(17)</sup>, porém não foram suficientes devido ao aumento expressivo nos últimos anos. Os efeitos da permanência em longo prazo de um corpo estranho na parede coronária ainda não foram totalmente definidos. Grande parte das lesões coronárias obstrutivas são passíveis de tratamento percutâneo, com um índice de sucesso primário – lesão residual <50% e ausência de complicações maiores >90%. Entretanto, a reestenose ou recorrência da lesão persiste <sup>(18)</sup>.

### 3.1.1 Doença arterial coronariana ou cardiopatia isquêmica

A insuficiência cardíaca (IC) é o estado em que ocorre o desequilíbrio entre a oferta e o consumo de oxigênio para o funcionamento pleno das necessidades metabólicas do miocárdio, resultando na isquemia em diversos graus de intensidade. Várias são as causas da insuficiência cardíaca coronária, porém a de maior importância devido a sua frequência de mortalidade é a IC obstrutiva aterosclerótica <sup>(19)</sup>. O sintoma mais comum e mais característico da doença isquêmica é a angina ou dor anginosa, levando à sensação de dor e desconforto torácico <sup>(20,21)</sup>.

A placa aterosclerótica dentro das artérias coronárias (Figura 1) leva a uma redução progressiva do lúmen arterial (estenose), privando o músculo cardíaco de oxigênio e nutrientes <sup>(22,23)</sup>. Os principais fatores de risco para aterosclerose coronariana são: hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, tabagismo, obesidade, sedentarismo, idade (homens acima de 55 anos e mulheres acima de 65 anos), história familiar de coronariopatia precoce, dentre outros <sup>(24,25,26,27,28)</sup>.

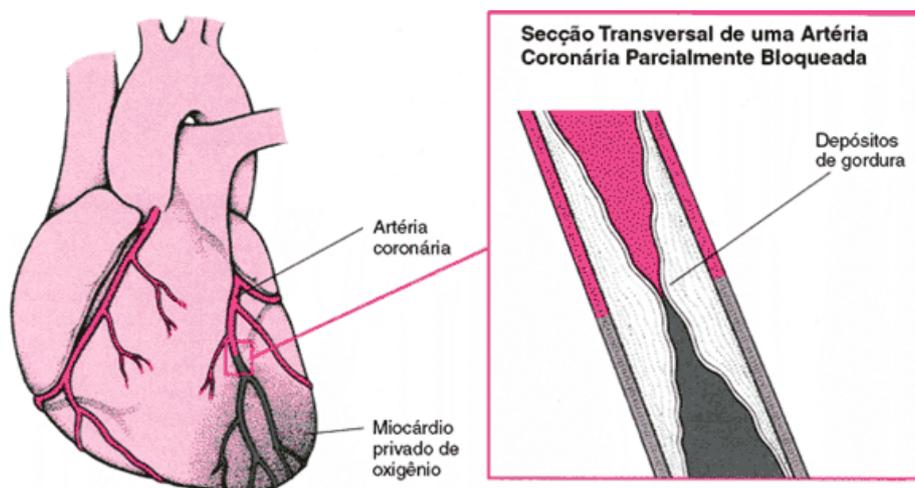


Figura 1 - Artéria coronária parcialmente bloqueada <sup>(29)</sup>

Sabemos que os fatores de risco para a doença coronariana (mesmos fatores de risco para aterosclerose) promovem disfunção endotelial em consequência do estresse

oxidativo na parede do vaso (Figura 2). Além disso, outro efeito da disfunção endotelial é o aumento na trombogenicidade do vaso, favorecendo a ativação plaquetária, reduzindo a fibrinólise e aumentando a síntese do inibidor do ativador do plasminogênio <sup>(15)</sup>.

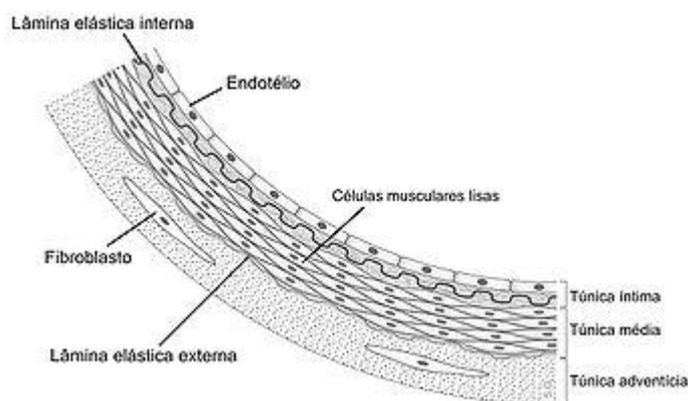


Figura 2 - Estrutura da parede arterial

A formação da placa aterosclerótica (Figura 3) ocorre gradualmente e, principalmente, devido ao depósito de gordura, colesterol, cálcio e colágeno sobre a parede da artéria. O sangue passa pelo lúmen através de um fluxo laminar onde a velocidade no centro é maior que nas extremidades (próxima à camada íntima) carregando as partículas de gordura. Essas, por sua vez, se chocam no endotélio ocasionando uma lesão vascular que em resposta se contrai formando alguns espaços (rompimento da camada). Sendo assim, as partículas de gordura acabam passando para a camada íntima desencadeando o processo inflamatório <sup>(15)</sup>.

Posteriormente, ocorre a ruptura da lâmina elástica interna e a lesão das células musculares lisas da camada média provocando a fratura e compressão da placa. Após ocorre a ativação e replicação das células musculares lisas e sua migração da camada média para a íntima, resultando na modulação da matriz extracelular e remodelação do vaso <sup>(30)</sup>. Porém, os macrófagos presentes na camada tentam eliminar as partículas de gordura (corpo estranho) aumentando o processo inflamatório <sup>(15)</sup>.

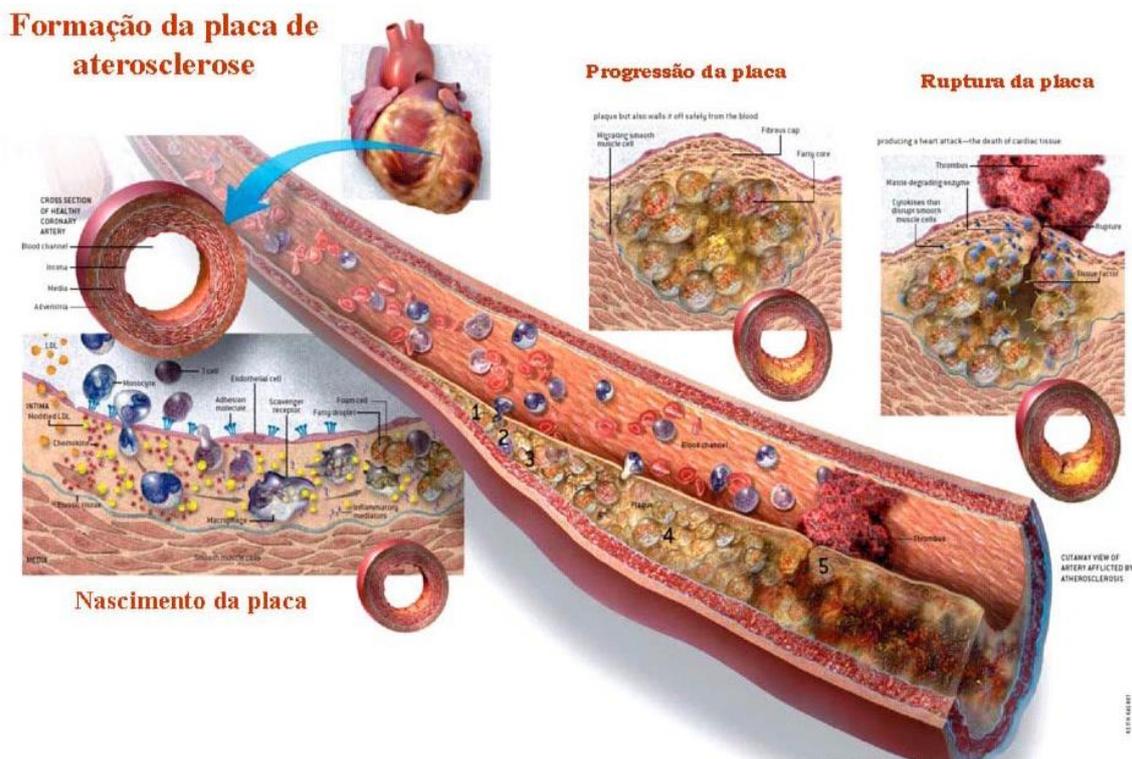


Figura 3 - Formação da placa de aterosclerose <sup>(31)</sup>

### 3.1.2 Angioplastia coronária transluminal percutânea (ACTP)

Com a finalidade de devolver a irrigação arterial para um determinado território miocárdico isquêmico a cirurgia de revascularização é utilizada. Este procedimento pode ser cirúrgico (retirada e implantação de um vaso sanguíneo) ou por angioplastia percutânea através do cateterismo coronariano <sup>(32)</sup>, com o objetivo de prolongar a vida, promover alívio da dor de angina e melhorar a qualidade de vida dos pacientes <sup>(33)</sup>.

A ACTP é utilizada para desobstruir uma coronária estenosada ou ocluída, através de um cateter especial em seu lúmen <sup>(20)</sup>. O método mais utilizado e que deu início ao procedimento é a angioplastia por balão (Figura 4), no qual, depois de posicionar a extremidade do cateter no segmento estenosado, um balonete é inflado, de modo a dilatar, pela força mecânica, o segmento estenosado. A força mecânica do balonete “abre” o segmento estenosado (empurrando a placa aterosclerótica), “fraturando” a placa, que, em seguida segue um processo de remodelamento <sup>(34)</sup>.

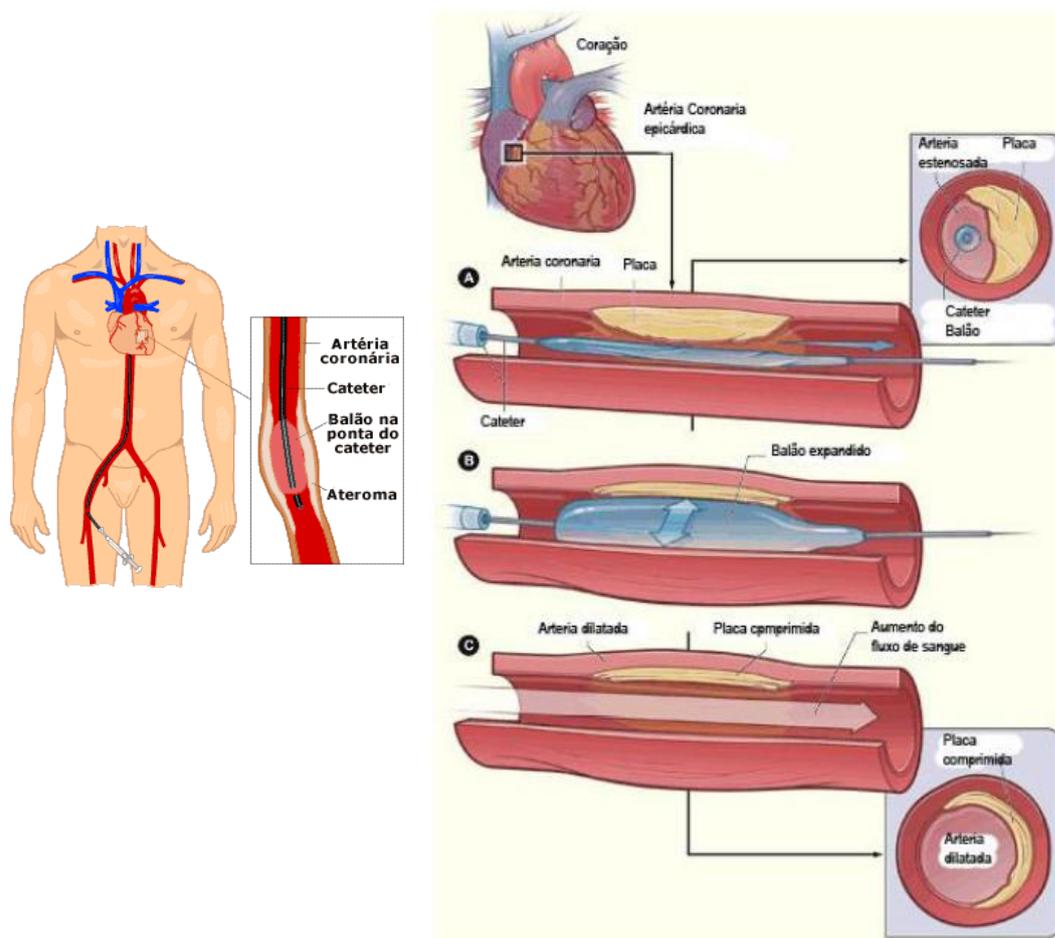


Figura 4 – ACTP com balão <sup>(20)</sup>

Embora o tratamento mecânico de lesões coronárias por meio de inflações do balão simples foi certamente um grande avanço em 1977, rapidamente tornou-se óbvio que esta técnica só pode fornecer uma solução temporária na maioria dos casos. Taxas de reestenose após angioplastia com balão eram muito elevadas (40-60%) devido a um "efeito rebote" do recuo do vaso e remodelamento constritivo (reobstrução quantificada em 50% ou mais da luz coronariana) <sup>(35)</sup>.

Os mecanismos da reestenose humana têm sido estudados a partir de modelos experimentais. Um dos elementos mais importantes é a formação de uma camada de neo-intima no local da lesão pelo balão. A lesão reestenótica é tipicamente fibroproliferativa,

com abundância de elementos celulares e matriz extracelular <sup>(22,30)</sup>, resultando em um tipo de resposta inflamatória desencadeada pela lesão mecânica da dilatação <sup>(36,20)</sup>.

A inserção percutânea de suportes metálicos, nomeadamente, stents, durante a angioplastia teve um impacto dramático obliterando qualquer fenômeno de retração aguda e crônica, mas a inevitável lesão do vaso resultou na hiperplasia neointimal <sup>(37,38)</sup>.

Na ACTP com stents (Figura 5), a dilatação da lesão obstrutiva arterial é provocada pelo balão. Neste procedimento, o stent é colocado em torno do balão, e quando este é insuflado a endoprótese se expande fixando-se na parede da artéria <sup>(20)</sup>.

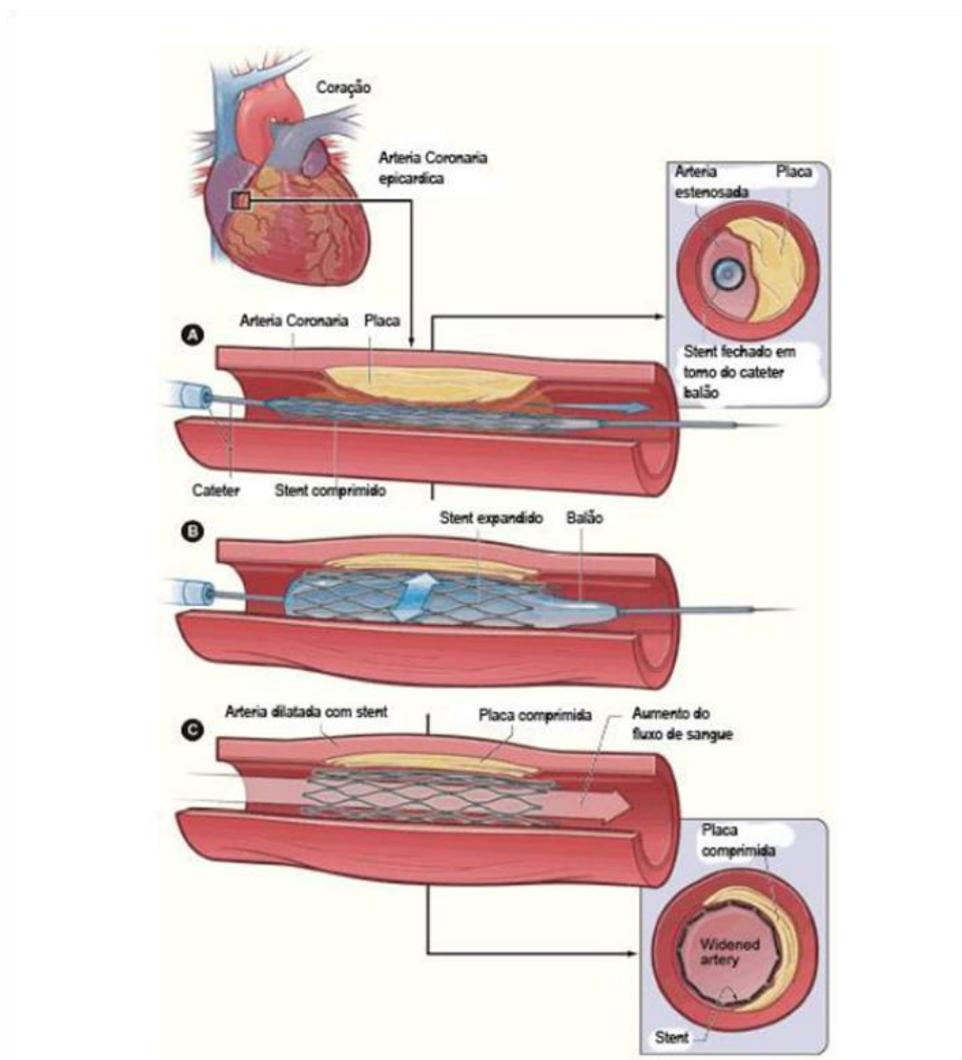


Figura 5 - Ilustração da aplicação de um stent <sup>(20)</sup>

A reestenose costuma ocorrer nos primeiros 6 meses após o procedimento. O uso de stents coronarianos revolucionou o sucesso da angioplastia principalmente por reduzir

pela metade a incidência em 6 meses após o procedimento <sup>(39)</sup>. Uma nova era no tratamento percutâneo da doença arterial coronariana começou quando stents baseados em sistemas de distribuição de drogas foram introduzidos na prática clínica <sup>(37)</sup>.

### 3.2 STENTS

Após a introdução da angioplastia com balão, em 1977, o stent intracoronário foi a mais importante evolução no campo da revascularização coronária percutânea. No entanto, o problema da reestenose continuou sendo um desafio aos cardiologistas intervencionistas <sup>(40,41,42)</sup>. Em 2003, foi estimada a realização de mais de dois milhões de angioplastias em todo o mundo, resultando em cerca de 250 mil casos de reestenose clínica, dos quais aproximadamente 50% correspondem a reestenose recorrente, conforme a Tabela 1. A reestenose após o implante do stent envolve uma complexa relação de eventos biológicos <sup>(40,41)</sup>.

Tabela 1 - Reestenose: extensão do problema <sup>(40)</sup>

<b>Intervenções coronárias no mundo (2003)</b>	<b>2,0 milhões (~ 50% nos Estados Unidos)</b>
Reestenose angiográfica:	
ATC	40%-45%
Stents	15%-25% – 350.000 por ano
Eventos clínicos	240.000 por ano
Reestenose recorrente	120.000 por ano
ATC = angioplastia transluminal coronária.	

O material implantado não deve produzir nenhuma resposta biológica adversa, local ou sistêmica, e também não pode sofrer degradação quando em contato com os tecidos adjacentes. Os fluidos corporais são corrosivos e durante procedimento cirúrgico podem sofrer acentuada queda de pH, podendo atacar o metal após sua inserção no corpo humano. Produtos oriundos da corrosão de alguns metais podem induzir efeitos biológicos

indesejáveis como citotoxicidade, histotoxicidade, hipersensibilidade e imunogenicidade (43).

As características de um stent ideal têm sido descritas em diferentes estudos. De maneira geral, os metais têm sido os materiais mais utilizados na produção de stents, embora polímeros, biodegradáveis ou não, vem sendo estudados nos últimos anos (44,45).

### 3.2.1 Stents metálicos (BMS)

Os BMS podem ser fabricados de aço inoxidável 316L, ligas Platina-Irídio (Pt-Ir), ligas de Tântalo (Ta), ligas de Titânio (Ni-Ti), Cromo- Cobalto (Cr-Co), Ferro puro (Fe) e ligas de Magnésio (Mg), sendo que os stents coronarianos são geralmente de aço inoxidável, nitinol (ligas Ni-Ti) e ligas de Cr-Co, por serem materiais biocompatíveis (46,47). Os BMS são divididos em: balão expansível ou auto-expansível. O tipo de metal escolhido é determinado pela habilidade do material, satisfazendo os requerimentos funcionais desejados (48).

O stent auto-expansível pode ser trançado ou com memória térmica e por apresentarem maior flexibilidade, são utilizados em locais onde o vaso seja tortuoso ou angulado. Stents trançados têm o desenho de uma mola, que permite ao stent readquirir seu tamanho original quando liberado. Já os stents de memória térmica são normalmente feitos de nitinol e tem uma forma predeterminada depois de expostos à temperatura do corpo (>30 graus) (48). Stents expansíveis por balão dependem unicamente do balão sobre o qual são montados para alcançar sua configuração pretendida. Stents expansíveis por balão são utilizados em lesões calcificadas ou centrais, onde uma grande força radial é necessária (49,50).

Os stents de aço inoxidável são conhecidos por sua biocompatibilidade e por serem menos resistente à formação de trombos do que outros metais. Porém preocupações em relação aos íons soltos na corrente sanguínea devido ao processo de degradação podem estimular uma resposta imunológica e contribuir para a reestenose (51).

A liga níquel-titânio (nitinol) é altamente biocompatível e resistente à corrosão. Adicionalmente à sua flexibilidade e durabilidade, apresentam memória de forma, sendo o material ideal para o design dos stents auto-expansíveis (48). Já as ligas de cobalto e cromo

apresentam maior resistência sendo mais difíceis de modelar. Também são biocompatíveis e resistentes à corrosão <sup>(52)</sup>.

Com relação à sua geometria (Figura 6), os stents podem ser classificados em: espiral, helicoidal, anéis individuais e estruturas em malha, que incluem uma variedade de desenhos construídos com um ou mais tipos de malhas. A geometria influencia no local da implantação do stent <sup>(53,50)</sup>.

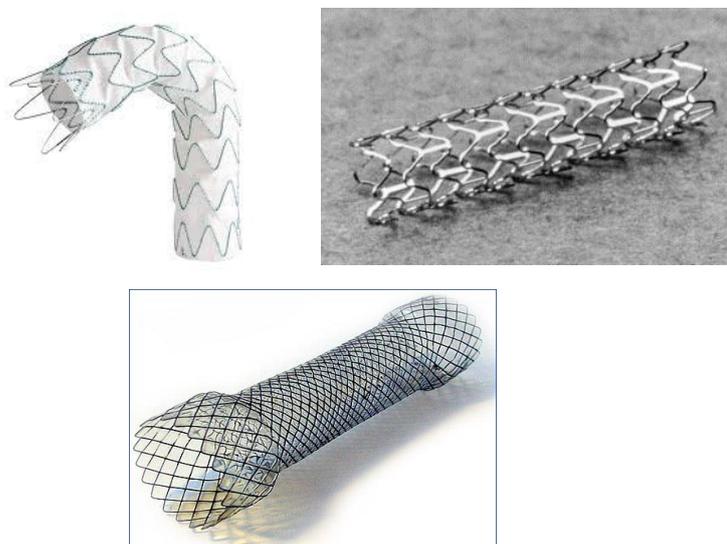


Figura 6 - Geometria dos stents <sup>(54)</sup>

O stent metálico ideal deve possuir as seguintes características: alta opacidade para melhor visualização, o que facilita o implante; elevada força radial para resistir ao remodelamento elástico; mínima variação de formato depois de implantado; sistema de implante simples e de fácil manuseio; flexibilidade longitudinal para cruzar vasos tortuosos e bifurcação aórtica; elasticidade radial para resistir à compressão externa sem deformação permanente; pequeno perfil com grande expansão para passar por pequenos introdutores e estenoses críticas; mínimo encurtamento após liberação; fácil resgate para o caso de falha na implantação; monitorável, resistente à trombose e à corrosão; sua expansão deve ocorrer com segurança; compatibilidade hidrodinâmica; mínima indução de hiperplasia íntima; pequena área de contato; boa durabilidade e baixo preço <sup>(50,53,55)</sup>.

Vale ressaltar que apesar dos BMS terem demonstrado, desde o início de sua utilização, uma redução das taxas de reestenose quando comparados a ACTP apenas com

balão <sup>(18)</sup>, as taxas de reestenose na ACTP com stents metálicos se mantiveram até o início deste século em valores de até 25% (nos casos mais complexos) <sup>(56)</sup>.

### 3.2.2 Stents poliméricos

Os polímeros mais utilizados para o desenvolvimento de stents poliméricos são: o poli (L-ácido lático) (PLLA), o poli (ácido-glicol) (PGA) e seus copolímeros (poli (ácido L-glicólico) (PLGA)), pois apresentam biodegradabilidade, biocompatibilidade e facilidade de processamento, sendo também, utilizados em sistemas de liberação de fármacos <sup>(57)</sup>.

O primeiro stent absorvível implantado em seres humanos foi o stent Igaki-Tamai (Igaki Medical Planning Company, Kyoto, Japan), construído a partir do PLLA (Figura 7). O processo de absorção ocorre por erosão em massa através da hidrólise das ligações <sup>(58)</sup>.

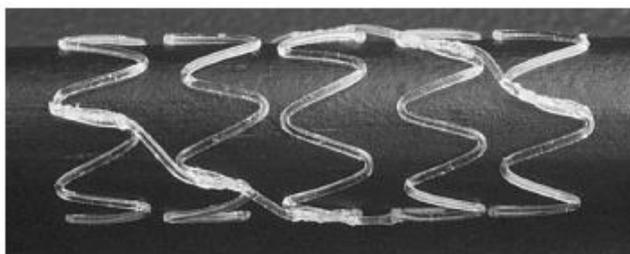


Figura 7 - Stent Igaki-Tamai bioabsorvível <sup>(58)</sup>

Já o stent REVA (Reva Medical Inc, San Diego, Calif) foi construído a partir de um polímero absorvível derivado do policarbonato, a tirosina. O tempo de absorção pode ser modificado e o design do stent permite que o balão seja expandido sem deformação do material (Figura 8) <sup>(58)</sup>.

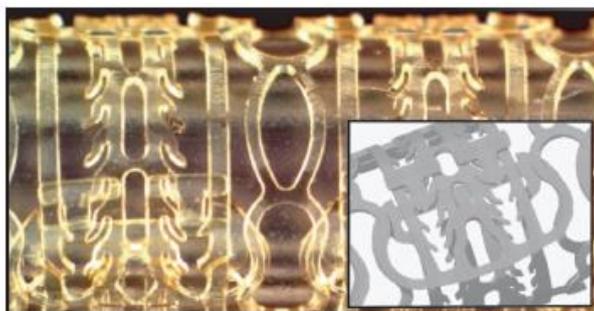


Figura 8 - Stent REVA bioabsorvível <sup>(58)</sup>

A partir dos stents poliméricos surgiram os stents bioabsorvíveis terapêuticos (Bioabsorbable Therapeutics Inc, Menlo Park, Califórnia) nos quais possuem a presença do fármaco (rapamicina e ácido salicílico). Esses stents apresentam dois polímeros bioabsorvíveis, sendo um utilizado como suporte principal (estrutura física) e o outro como revestimento sendo um veículo na liberação do agente antiproliferativo (Figura 9) <sup>(58)</sup>.

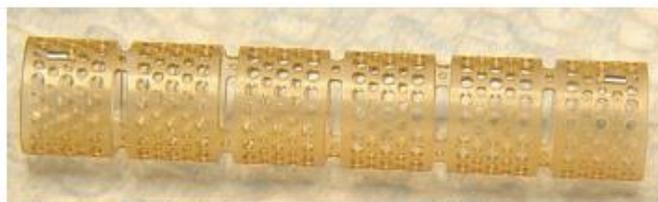


Figura 9 - Stent bioabsorvível terapêutico <sup>(58)</sup>

O BVS (Abbott Vascular, Santa Clara, Califórnia) é um stent com liberação de everolimus, sendo o primeiro stent absorvível com resultados clínicos e imagem semelhante aos stents farmacológicos metálicos (DES), implantados por dois anos, mas com a vantagem de serem totalmente absorvidos. Esses stents são constituídos de PLLA como suporte principal e de poli-D,L-lático como revestimento que contem e controlam a liberação do fármaco antiproliferativo everolimus <sup>(58)</sup>.

O PLLA foi aprovado para ser utilizado em diversas situações clínicas como suturas absorvíveis, placas e parafusos ortopédicos, sendo o polímero que mostrou ser seguro em artérias coronárias humanas conforme apresentou os ensaios do stent Igaki-Tamai <sup>(58)</sup>. Já o PLGA foi extensivamente utilizado como veículo na liberação controlada de fármaco, devido à sua boa biocompatibilidade, biodegradabilidade e resistência mecânica <sup>(59)</sup>.

### 3.2.3 Stents farmacológicos

Nos últimos anos, a Food and Drug Administration (FDA) fornece orientações para as indústrias de stents, com o intuito de avaliar a segurança e a eficácia dos revestidos e a eluição de drogas. Está claramente mencionado que as empresas que procuram a comercialização de seus recém-desenvolvidos stents revestidos devem fornecer dados

específicos sobre a adesão, eficácia da barreira, durabilidade e estabilidade do revestimento <sup>(60,61,62)</sup>.

Para garantir o desempenho ideal do dispositivo, essas propriedades devem ser respeitadas mesmo após a implantação do stent. No entanto, vários exemplos apresentados na literatura mostram a falha do revestimento (por exemplo: delaminação e/ou fendas), especialmente após a expansão do stent, mesmo no caso de stents comercializados. Estas falhas poderiam ser associadas às alterações topográficas e estruturais do substrato durante o processo de expansão <sup>(60,61)</sup>.

Inicialmente, os revestimentos de stents metálicos foram utilizados para aumentar a biocompatibilidade e hemocompatibilidade desses materiais. Depois esta técnica tornou-se uma “plataforma” para a liberação controlada de drogas visando à inibição da hiperplasia neointimal e os processos trombóticos que influenciam diretamente na reestenose <sup>(63,64)</sup>.

Os materiais de revestimento de stents podem ser classificados em quatro tipos: materiais porosos, polímeros, materiais inorgânicos e células endoteliais, esses dois últimos exclusivamente utilizados como materiais de revestimento. O uso de células endoteliais como tratamento superficial permite a re-endotelização mediante proliferação, diferenciação e a liberação de fatores de crescimento, sendo que o uso destes recobrimentos encontra-se limitado devido à rápida perda das células semeadas, ao dano endotelial após a expansão do dispositivo e a incapacidade de manter a aderência durante o fluxo sanguíneo <sup>(65)</sup>.

As propriedades de superfície como hidrofiliabilidade, lubrificidade, uniformidade e energia de superfície determinam a biocompatibilidade com tecidos e sangue, além das propriedades físicas influentes como durabilidade, permeabilidade e degradabilidade. As propriedades de superfície também determinam a capacidade de sorção de água em polímeros, que sofrem degradação hidrolítica e intumescimento (hidrogéis). Propriedades de superfície podem ser melhoradas por meios químicos, físicos e biológicos para aumentar sua biocompatibilidade <sup>(65)</sup>.

As técnicas para carregamento de drogas nos stents convencionais incluem: fixação da droga diretamente sobre a superfície do metal; carregamento da droga nos poros, no caso de stents metálicos porosos e a incorporação da droga em um polímero que é usado posteriormente como material de revestimento do stent, sendo que a liberação da droga depende da forma como esta é aplicada no stent <sup>(63)</sup>.

No entanto, estas novas tecnologias de carregamento de droga estão associadas a problemas, tais como a variabilidade da concentração do medicamento de dispositivo para dispositivo, a incapacidade de controlar e manter a concentração da droga, a incapacidade para variar a distribuição da droga de maneira controlada para um perfil de liberação mais adequado, além do custo relativamente elevado comparado a um stent convencional <sup>(64)</sup>.

A Tabela 2 apresenta os stents farmacológicos disponíveis atualmente no mercado e registrados pela ANVISA, sendo que os primeiros registrados no Brasil e aprovados pela ANVISA, em 2003, foram o Cypher<sup>®</sup> e o Taxus<sup>®</sup> <sup>(66)</sup>. Em 2012 foi aprovado pela ANVISA o primeiro stent cardiovascular farmacológico desenvolvido no Brasil, o Inspiron<sup>®</sup>, sendo também o primeiro da América Latina <sup>(67,68)</sup>.

Tabela 2 - Principais stents farmacológicos registrados no Brasil (ANVISA) <sup>(67)</sup>

Fármaco	Stents	Fabricante	Distribuidor
Paclitaxel	Taxus <sup>®</sup> Liberté	Boston Scientific (Irlanda /EUA)	Boston Scientific do Brasil
	Axxion <sup>®</sup>	Occam International (Holanda)	Medstar
Tacrolimo	Janus <sup>®</sup>	CID S.r.l. (Itália)	VR Medical
Sirolimo	Cypher <sup>®</sup>	Cordis (Holanda/Irlanda)	Johnson&Johnson do Brasil
	Pronova <sup>®</sup>	Vascular concepts (Índia)	Artmedica
	Inspiron <sup>®</sup>	Scitech (Brasil)	Scitech
	Biomine <sup>®</sup>	Meril Life Sciences (Índia)	VR Medical
Everolimo	Xience <sup>®</sup>	Abbott Vascular (EUA)	Abbott Laboratórios do Brasil
	Promus <sup>®</sup>	Boston Scientific (Irlanda /EUA)	Boston Scientific do Brasil
Zotarolimo	Endeavor <sup>®</sup>	MedtronicIreland (Irlanda)	Medtronic Comercial
Biolimo	Norobi <sup>®</sup>	Medtronic Comercial (Bélgica)	Terumo Medical
	Biomatrix <sup>®</sup>	BiosensorsEurope (Suíça)	VR Medical

Tavares *et al* <sup>(69)</sup>, investigaram a evolução clínica tardia de pacientes portadores de doença coronária estável tratados com stent farmacológico. Os seguintes stents farmacológicos de primeira e segunda geração foram utilizados: Cypher<sup>®</sup> (Sirolimus); Taxus<sup>®</sup> (Paclitaxel); Endeavor<sup>®</sup> e Resolute<sup>®</sup> (Zotarolimus); Xience V<sup>®</sup> e Promus<sup>®</sup> (Everolimus); e BioMatrix<sup>®</sup> (Biolimus A9). O controle antitrombótico consistiu na administração de dois agentes antiplaquetários: ácido acetilsalicílico e clopidogrel.

Foi observado que os pacientes portadores da doença coronária estável tratados inicialmente com stent farmacológico apresentaram excelente evolução clínica no seguimento em longo prazo, incluindo baixa mortalidade cardíaca. Os stents

farmacológicos ainda demonstraram efetividade clínica sustentada, incluindo incidência de revascularização da lesão-alvo <5% no seguimento médio de 3 anos e 9 meses, e sobrevida livre de revascularização da lesão-alvo >90% no acompanhamento até 8 anos. Portanto, os stents farmacológicos demonstraram superioridade em relação aos stents não farmacológicos principalmente pela marcante redução das taxas de revascularização da lesão-alvo <sup>(69)</sup>.

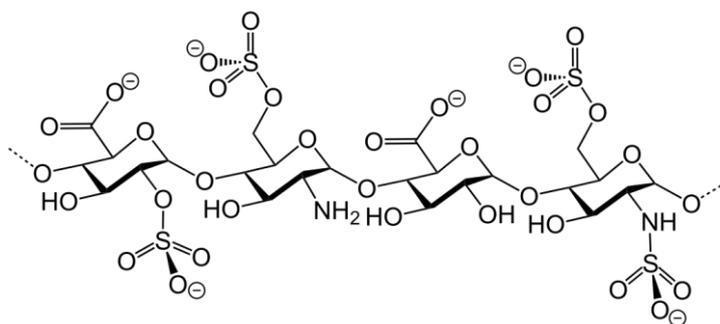
As drogas que mais têm sido pesquisadas para liberação e tratamento da reestenose são a Heparina, o Sirulimos e o Paclitaxel. A primeira delas efetiva na terapêutica de trombose e proliferação neointimal, enquanto as outras duas são principalmente empregadas devido ao efeito anti-proliferativo no bloqueio da hiperplasia <sup>(64)</sup>.

### 3.3 HEPARINA

A heparina (HP) é o anticoagulante e agente antitrombótico mais utilizado mundialmente no tratamento da trombose (venosa, pulmonar e cerebral), do infarto do miocárdio e na prevenção da obstrução dos vasos cerebrais em pacientes com fibrilação atrial (um tipo de arritmia cardíaca) <sup>(70,71,72,73)</sup>.

É caracterizada como um anticoagulante indireto, pois depende de outros fatores e/ou cofatores plasmáticos para expressar sua atividade. Também induz a secreção de um fator tecidual inibidor da coagulação através das células endoteliais contribuindo para a sua ação antitrombótica <sup>(72,74)</sup>.

A HP é um polissacarídeo polianiônico sulfatado da família das glicosaminoglicanas, composta de cadeias alternadas de resíduos de D-glicosaminoglicana e ácido urônico <sup>(70,71)</sup>. Sua macromolécula é sulfatada, ácida e carregada negativamente conforme ilustrado na Figura 10. São extraídas da mucosa intestinal de suínos ou bovinos, por degradação química ou enzimática, resultando em tamanhos de moléculas (cadeias) bastante heterogêneos (tamanhos variados). Por este motivo, podem interferir na sua atividade anticoagulante e nas suas propriedades farmacocinéticas <sup>(70)</sup>.

Figura 10 – Estrutura química da Heparina <sup>(75)</sup>

Além disso, a HP apresenta algumas desvantagens tais como: a administração somente de forma endovenosa ou subcutânea; desconforto e hematomas locais <sup>(71,73,76)</sup>; dose-resposta variável e possibilidade de desenvolvimento da trombocitopenia (redução no número de plaquetas no sangue) em pacientes com tratamento prolongado <sup>(77,76,78)</sup>.

Para minimizar principalmente o desconforto e hematomas locais, uma alternativa é a utilização da HP em sistemas de liberação controlada. Esses sistemas melhoram a estabilidade, a absorção e a concentração terapêutica por um período pré-estabelecido, reduzindo a frequência das dosagens e o conforto do paciente <sup>(74,79)</sup>.

### 3.3.1 Coagulação sanguínea

A coagulação sanguínea envolve uma sequência complexa de reações químicas que resulta na formação de um coágulo de fibrina onde o seu descontrole pode levar aos fenômenos hemorrágicos (sangramento) ou a formação de trombos (trombose), que é a maior causa de morbidade e mortalidade em pacientes hospitalizados por efeitos pós-operatórios <sup>(80)</sup>.

Em condições normais, o sistema de coagulação predomina no sentido da coagulação. Nos casos de trombose, ou seja, quando há um desequilíbrio da hemostasia (equilíbrio do fluxo sanguíneo), é indispensável o tratamento com um anticoagulante, sendo a heparina a mais utilizada. No sistema hemostático estão presentes as plaquetas, as proteínas da coagulação sanguínea, os vasos, os anticoagulantes naturais (proteínas inibitórias) e o sistema de fibrinólise <sup>(80,81)</sup>.

A antitrombina (uma glicoproteína) é produzida no fígado sendo o inibidor mais eficiente da coagulação. No processo de anticoagulação, ocorre uma reação entre a antitrombina e a trombina, formando um complexo bimolecular, sendo um processo relativamente lento na ausência da heparina. Porém a presença da heparina acelera a formação deste complexo inibidor enzimático, considerando que, pequenas quantidades de agentes pró-coagulantes podem ativar grande quantidade dos seus substratos. Vale também ressaltar que são necessários mecanismos eficientes que limitem o tampão hemostático formado ao tamanho necessário. Portanto os inibidores da coagulação neutralizam os pró-coagulantes ativos evitando assim, uma disseminação descontrolada da coagulação, o que levaria ao estado de hipercoagulabilidade, predispondo a trombose <sup>(82)</sup>.

Atualmente se sabe que o endotélio é a camada de células que delimitam a parede dos vasos sanguíneos e que além de uma barreira estática também é capaz de sintetizar, secretar e regular uma variedade de substâncias. Logo após uma lesão vascular, causando o dano às células endoteliais, as plaquetas são ativadas e se aderem às fibras colágenas formando um tampão no local da lesão <sup>(81)</sup>.

As células endoteliais lesionadas, por sua vez, expõem seus fosfolipídios e seu fator tecidual (FT, também conhecido como Fator III, que é uma glicoproteína), os quais servirão como um substrato. O FT e os fosfolipídios, na presença de íons cálcio dão início à ativação do fator VII, tornando-o ativado (VIIa). O fator VIIa promove a ativação do fator X em Xa e que na presença do fator Va forma o complexo protrombinase, que irá clivar a molécula de protrombina, formando a trombina (Fator II). Assim, a trombina irá clivar o fibrinogênio (uma proteína solúvel) formando monômeros de fibrina (proteína insolúvel), que por sua vez, forma o coágulo no local da lesão vascular. Portanto, essa sequência de reações enzimáticas, nas quais, o produto de uma reação servirá como enzima para a próxima reação, tem como finalidade converter fibrinogênio em fibrina para formar a rede proteica, o coágulo <sup>(83,81)</sup>.

### **3.3.2 Hemólise**

O contato do sangue com os biomateriais empregados nos dispositivos (superfícies estranhas) pode desencadear um aumento da resposta inflamatória sistêmica, já ativada pela condição hemodinâmica dos pacientes, por meio da ativação de sistemas de resposta celular e de proteínas plasmáticas <sup>(84)</sup>.

O trauma mecânico sofrido nas células pela passagem do sangue implica na diminuição dos seus elementos, principalmente as hemácias e plaquetas provocando a hemólise <sup>(84)</sup>. Portanto a hemólise é a lise (destruição prematura) das hemácias (glóbulos vermelhos) por rompimento da membrana plasmática, resultando na liberação da hemoglobina livre <sup>(85)</sup>.

Quando a destruição de hemácias nos vasos sanguíneos se dá em quantidades anormais pode-se resultar na formação de um trombo ou no desenvolvimento da chamada anemia hemolítica (intravascular ou extravascular). Também pode ocorrer hemólise quando o sistema imunológico, patologicamente, passa a combater e destruir as hemácias do próprio organismo, desencadeando, assim, a anemia hemolítica auto-imune <sup>(86)</sup>.

A hemólise pode ocorrer de três formas distintas: por seleção natural do baço, por desequilíbrio físico-químico (geralmente patológico) ou pela exposição das células a condições não-fisiológicas de solicitação mecânica <sup>(87)</sup>. Portanto a realização do ensaio de hemólise em biomateriais implantáveis, principalmente para os stents, é de extrema importância, pois se pode evitar ou reduzir complicações ao paciente pós-implante.

### **3.4 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS**

O sistema de liberação de fármacos refere-se à tecnologia utilizada para otimizar a liberação de um fármaco melhorando sua resposta terapêutica <sup>(88)</sup>.

Nos sistemas convencionais, a concentração do fármaco no sangue segue o perfil ilustrado na Figura 11, onde a concentração do fármaco na corrente sanguínea é oscilante, aumentando até atingir um pico máximo e logo após declina. Portanto, os níveis plasmáticos são dependentes das doses administradas, sendo que cada fármaco possui uma faixa de ação terapêutica onde acima é tóxico (super dosagem) e abaixo é ineficaz (sub dosagem) <sup>(88)</sup>.

Na liberação controlada se busca o desenvolvimento de um sistema que mantenha a concentração do medicamento na corrente sanguínea dentro da faixa terapêutica, por um tempo prolongado e com uma cinética bem estabelecida <sup>(88)</sup>.

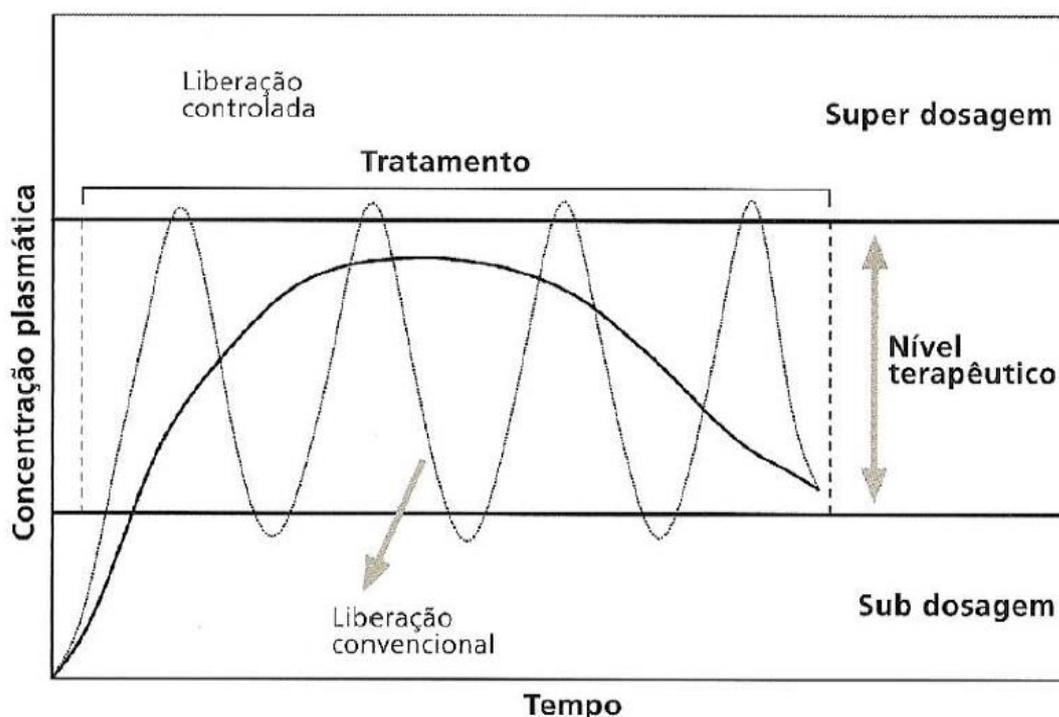


Figura 11 - Modelo simplificado da liberação de fármaco <sup>(88)</sup>

O sistema de liberação controlada oferece algumas vantagens em relação aos métodos convencionais tais como: a liberação do fármaco se mantém em níveis constantes, resultando em uma maior eficiência na sua utilização, pois é aplicado diretamente do sítio de ação. Sendo assim, altas concentrações podem ser utilizadas evitando efeitos colaterais sistêmicos, aumentando o conforto do paciente e a eficácia do tratamento <sup>(89)</sup>. No entanto, ainda apresentam algumas dificuldades relacionadas, como por exemplo, a impossibilidade de interrupção da ação do fármaco em caso de irritação e/ou intolerância pelo paciente <sup>(90)</sup>.

A inovação em sistemas e formulações para fármacos já existentes requer estudos mais detalhados devido à complexidade de interações entre o fármaco, o veículo e o meio de liberação <sup>(91)</sup>.

Quanto às tecnologias disponíveis para sustentar a liberação prolongada do fármaco a partir de formas farmacêuticas, destacam-se os sistemas matriciais, reservatórios ou osmóticos que servem de veículos para sua liberação. Independentemente do sistema ou do tipo da forma farmacêutica, a utilização de excipientes se faz necessária, sendo que os polímeros com características e propriedades específicas, tais como, capacidade de formar estruturas (matrizes ou membranas) microporosas/semipermeáveis, capacidade de

intumescimento em contato com a água e, principalmente, capacidade de complexação com fármacos, são os mais utilizados <sup>(92)</sup>.

### **3.4.1 Sistemas matriciais**

A incorporação de fármacos em sistemas matriciais hidrofílicos é atualmente o método mais utilizado para prolongar a liberação de fármacos em formas farmacêuticas, sendo que o perfil de liberação através desse sistema é diretamente influenciado pelas características físico-químicas do veículo e do fármaco <sup>(91,93)</sup>.

Nos sistemas matriciais, o fármaco pode estar homogeneamente disperso na matriz polimérica, dentro de um reservatório ou adsorvido em sua superfície, e na sua liberação estão envolvidos processos físicos e químicos, incluindo a entrada de água na matriz (inchamento/relaxamento das cadeias), a difusão do fármaco pelos poros da matriz e/ou por degradação do polímero <sup>(88,92)</sup>.

### **3.4.2 Mecanismos de liberação**

Os mecanismos para a liberação controlada de fármacos envolvem: difusão, ativação do solvente, degradação/erosão e dissolução.

#### **3.4.2.1 Difusão**

O mecanismo de difusão é o processo pelo qual a matéria é transportada de um local para o outro situado no interior do próprio sistema resultando em movimentos moleculares aleatórios que ocorrem em pequenas distâncias. Esse processo pode ser quantificado pela lei de Fick através de uma expressão que traduz a velocidade de transferência, por unidade de superfície, da substância a difundir em um meio isotrópico através de uma barreira polimérica. Portanto, o coeficiente de difusão do fármaco em um polímero pode ser influenciado por diversos fatores tais como, densidade de reticulação, grau de ramificação e de cristalinidade e o tamanho das regiões cristalinas <sup>(94)</sup>.

Para muitos polímeros a difusão não é adequadamente descrita pela lei de Fick, principalmente quando a substância penetrante provoca mudanças configuracionais

significativas (grande aumento de volume). Neste caso, à medida que o solvente penetra, a matriz polimérica passa de um estado configuracional emaranhado para um estado em que as cadeias se dispõem helicoidalmente e este é um processo de relaxamento no qual, às vezes, pode ser mais lento que o processo de difusão. Sendo assim, o processo passa a ser controlado/limitado pela cinética de relaxamento (não Fickiana) e não pela lei de Fick <sup>(94)</sup>.

Portanto, considera-se que os desvios ao comportamento Fickiano estão associados a taxas finitas de mudança na estrutura polimérica provocados pela entrada e saída de moléculas circundantes. Já os efeitos anômalos estão relacionados diretamente com a influência da mudança estrutural, da solubilidade e na mobilidade difusional ou com pressões internas exercidas por uma parte do sistema sobre as demais regiões na medida em que a difusão progride <sup>(94)</sup>.

Nos sistemas controlados por difusão, o fármaco pode estar revestido por uma membrana polimérica (sistema reservatório) ou dissolvido/disperso uniformemente através de uma matriz polimérica (sistema monolítico), conforme ilustrado na Figura 12. Portanto, a difusão é impulsionada pelo gradiente de concentração entre o núcleo e a parte externa do invólucro ou revestimento de barreira <sup>(63)</sup>.

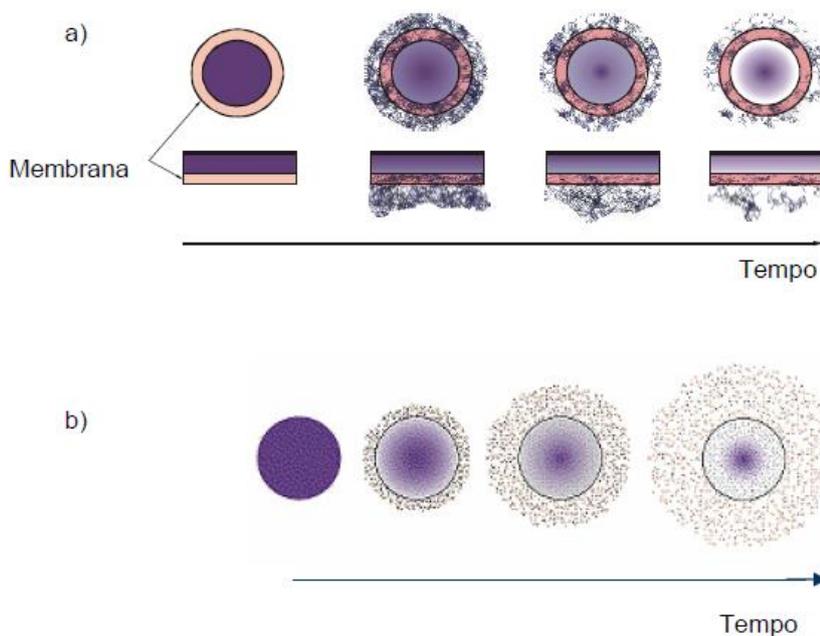


Figura 12 - Liberação do fármaco de um sistema reservatório (a) e matricial (b) <sup>(63)</sup>

### 3.4.2.2 Ativação do solvente

O sistema de ativação do solvente pode ser feito osmoticamente ou por inchamento. A Figura 13 mostra o mecanismo osmótico (agentes solúveis em água) de uma membrana semipermeável com um orifício, circundando o centro osmótico do fármaco. Quando o sistema é introduzido em um meio aquoso, a água é absorvida com uma taxa controlada e um volume saturado de solução do fármaco é liberado (igual à quantidade de água absorvida) devido ao aumento da pressão osmótica. A taxa do fármaco liberado é constante dependendo do excesso do fármaco presente no centro osmótico <sup>(63,94)</sup>.

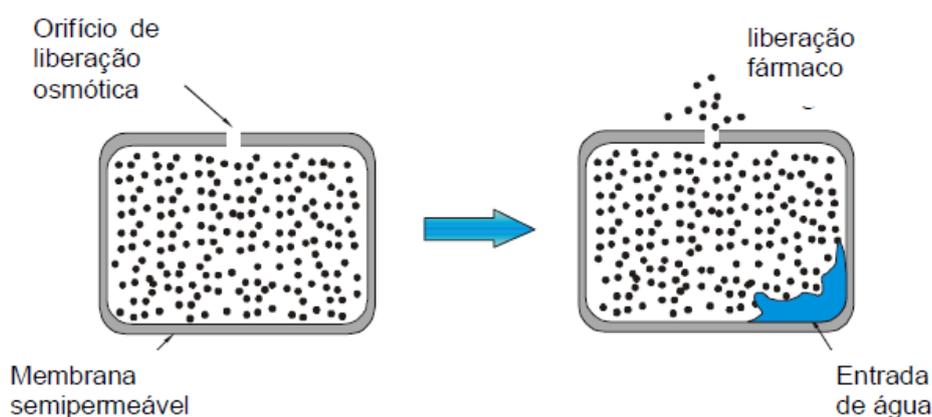


Figura 13 - Liberação do fármaco do sistema osmoticamente controlado <sup>(63)</sup>

No sistema de inchamento, o material com o fármaco é compacto no estado seco e dilata-se (incha) em contato com o líquido. Este sistema de inchamento é, muitas vezes, misturado com o processo de difusão e podem ser diferenciados novamente entre sistemas de matriz e reservatório. A maioria dos materiais utilizados neste sistema são hidrogéis. Para alguns polímeros a capacidade de inchamento pode ser desencadeada por alterações do ambiente circundante do implante, como mudança de pH e temperatura <sup>(63,95,96,97)</sup>.

### 3.4.2.3 Degradação/erosão

Os sistemas controlados quimicamente podem liberar fármacos via degradação/erosão do polímero (erosão superficial ou volumétrica) (Figura 14) ou por

clivagem do fármaco de uma cadeia polimérica <sup>(63)</sup>. O fármaco é incorporado em polímeros hidrossolúveis (membrana) ou em uma matriz polimérica e a sua liberação envolve dois processos sequenciais, dependentes do tempo, que são a dilatação (difusão do meio para o interior da matriz) e formação de um gel e a degradação/erosão, que podem ou não ocorrer simultaneamente até a completa desagregação das cadeias poliméricas. Portanto, o controle deste processo de liberação está diretamente relacionado com a solubilidade do fármaco e da matriz com o meio, ou seja, para fármacos muito solúveis a liberação é determinada principalmente pela difusão do fármaco através da camada gelificada. Já para fármacos pouco ou muito pouco solúveis a liberação é controlada pelo processo de erosão <sup>(94)</sup>.

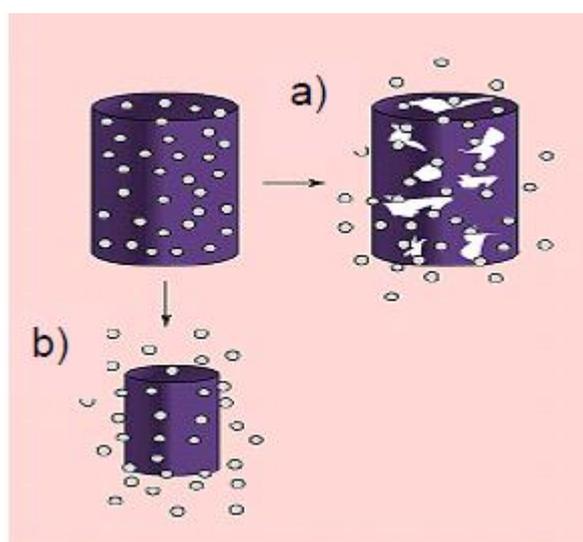


Figura 14 - Degradação do polímero (a) erosão superficial, (b) erosão volumétrica <sup>(63)</sup>

#### 3.4.2.4 Dissolução

A dissolução pode ser definida como o processo pelo qual uma substância sólida entra no solvente para formar uma solução. Basicamente é mais do que uma simples medida da taxa de solubilidade, sendo descrita como um ensaio físico que tem a capacidade de prever a liberação de uma determinada área numa determinada quantidade e no tempo correto, ou seja, este processo é controlado pela afinidade entre fármaco e

solvente e pelo modo como o sistema farmacêutico o libera. No entanto, a solubilidade de um fármaco é parâmetro importante nos estudos de pré-formulação, podendo ser modificada pela incorporação de outras substâncias. Já a interpretação quantitativa dos valores obtidos nos ensaios de dissolução é feita através da utilização de uma equação genérica (modelos matemáticos), que traduz matematicamente a curva de dissolução em função de alguns parâmetros relacionados com a forma farmacêutica <sup>(94,98)</sup>.

### 3.4.3 Cinética de liberação controlada

Devido à complexidade dos sistemas de liberação, modelos matemáticos têm sido desenvolvidos com a finalidade de descrever a liberação do fármaco em função de alguns parâmetros relacionados com a sua forma farmacêutica (o tipo de fármaco, sua forma polimórfica, a cristalinidade, tamanho de partícula, solubilidade e quantidade incorporada) <sup>(94)</sup>.

Os modelos que se fundamentam em estudos da cinética de liberação (dissolução) possibilitam conclusões quanto ao processo de dissolução de uma determinada formulação, pois é possível conhecer a velocidade do processo, a quantidade máxima dissolvida e os pontos nos quais podem ocorrer alterações significativas <sup>(99)</sup>. Em função disso, existem diversos modelos descritos na literatura, porém neste trabalho foram utilizados e avaliados os modelos propostos por Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Peppas-Shalin, Ritger-Peppas e Linder-Lippold.

O modelo de Higuchi <sup>(100)</sup> é utilizado para descrever o processo empírico de liberação de fármacos, no qual obedece a lei de Fick e também demonstra que a fração de medicamento liberado é uma função da raiz quadrada do tempo e se representa da seguinte forma:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^{1/2} \quad \text{equação 1}$$

onde  $M_t/M_\infty$  é a fração de fármaco liberado em um tempo  $t$  e  $K$  corresponde a constante de velocidade de liberação.

Porém, o uso desta relação em sistemas que intumescem pode tornar-se insuficiente, pois sistemas deste tipo podem ser erodíveis, devendo-se atender ao atributo

---

do relaxamento das cadeias poliméricas para o transporte do fármaco. Portanto, a equação de Higuchi apresenta algumas limitações na interpretação dos mecanismos de liberação controlada.

Sendo assim, Korsmeyer-Peppas <sup>(101,102)</sup> propuseram um modelo para tentar explicar os mecanismos de liberação de fármacos onde ocorre erosão e/ou dissolução da matriz sendo uma forma generalizada da equação de Higuchi expressa como:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n \quad \text{equação 2}$$

onde  $K$  é uma constante de velocidade que incorpora características estruturais e geométricas do sistema de liberação e  $n$  é o expoente que indica o mecanismo diante do qual ocorre a liberação (Tabela 3).

Tabela 3 - Interpretação dos mecanismos de liberação através do valor do expoente de liberação

Expoente de liberação ( $n$ )	Mecanismo de liberação
$0,5 > n$	difusão pseudo-Fickiana
0,5	difusão Fickiana
$0,5 < n < 1,0$	difusão anômala
1,0	transporte Caso II

Quando o valor de  $n$  é 0,5 a liberação do fármaco segue o mecanismo de difusão do tipo Fickiana. Uma difusão anômala ocorre quando os valores de  $n$  são maiores que 0,5 e menores que 1,0. Nos casos onde o sistema de liberação é um material poroso, a constante  $n$  pode resultar em valores menores que 0,5 observando um mecanismo de difusão pseudo-Fickiana. Quando o processo de liberação é controlado pela relaxação das cadeias poliméricas, o valor de  $n$  é 1,0 e o mecanismo é transporte Caso II <sup>(103)</sup>.

Em 1987 Ritger e Peppas <sup>(104)</sup> propuseram uma expressão semi empírica para estudar a cinética de liberação de princípios ativos a partir de sistemas planos em que ocorre uma mistura dos mecanismos Fickiano e Caso II, conforme a equação:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 t^{1/2} + K_2 t \quad \text{equação 3}$$

onde  $K_1$  representa a contribuição do mecanismo Fickiano e  $K_2$  representa a contribuição do mecanismo de relaxação das cadeias poliméricas.

Em 1989, Peppas e Shalin <sup>(105,106)</sup>, modificaram a equação proposta por Ritger e Peppas (1987) com o objetivo de generalizá-la para determinar a contribuição do processo de difusão Fickiana, assim como a contribuição do processo de relaxação das cadeias poliméricas, resultando na equação biexponencial que é independente da geometria do sistema de liberação.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 t^n + K_2 t^{2n} \quad \text{equação 4}$$

onde  $n$  é o expoente de liberação para um sistema de qualquer forma geométrica.

Já Linder e Lippold em 1995 <sup>(107,100)</sup>, descreveram o processo de liberação de fármacos modificando a equação através do acréscimo de um termo “ $b$ ”, com o objetivo de descrever o efeito “*burst*”, que é a liberação do fármaco que se encontra na superfície do sistema de liberação, no qual é liberado imediatamente após estar em contato com o meio.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 t^n + b \quad \text{equação 5}$$

### 3.5 Hidrogéis

Os hidrogéis são materiais poliméricos reticulados que retêm uma significativa fração de água em sua estrutura, sem se dissolver e são constituídos de uma rede tridimensional formada por ligações cruzadas de homopolímeros ou copolímeros. Estes polímeros intumescem e retêm água, e têm sido muito usados em aplicações biomédicas <sup>(108,109,95)</sup>.

Em geral, a estrutura reticulada dos hidrogéis é caracterizada por ligações cruzadas que podem ser formadas por ligações covalentes, iônicas ou por interações mais fracas como van der Waals e ligações de hidrogênio <sup>(96,110,108,95)</sup>. Devido à natureza dessas ligações os hidrogéis podem ser classificados em físicos ou químicos. Os hidrogéis do tipo físico, conhecidos também como hidrogéis temporários, são formados através de interações físicas, obtidas a partir da interação de forças eletrostáticas, formação de

ligações de hidrogênio e cristalitos, interações hidrofóbicas. Já os hidrogéis do tipo químico, conhecidos também como hidrogéis permanentes, são formados por reações químicas entre monômeros vinílicos e monômeros bifuncionais <sup>(96,111,97)</sup>.

Os polímeros utilizados para sintetizar os hidrogéis podem ser de origem natural (quitosana, ágar, ácido hialurônico, alginato, agarose, colágeno) ou sintética (poli (óxido de etileno), poli (acrilamida), poli (álcool vinílico), poli (*N*-vinil-2-pirrolidona), poli (ácido acrílico)), biodegradáveis ou não <sup>(109,111,65)</sup>. Já os monômeros podem ser classificados em neutros ou iônicos, dependendo da natureza dos grupos laterais ligados a cadeia principal <sup>(96)</sup>.

Uma das principais características dos hidrogéis é o caráter hidrofílico, devido à presença de grupos solúveis em água, como -OH, -COOH, -CONH<sub>2</sub>, -CONR, -SO<sub>3</sub>H, na matriz polimérica com baixa densidade de entrecruzamento <sup>(112,95,96)</sup>. Os hidrogéis são materiais biocompatíveis apresentando uma consistência elástica devido à quantidade de água que podem reter em sua estrutura com uma baixa tensão superficial, reduzindo assim a irritação produzida pela fricção dos tecidos com os quais entram em contato <sup>(95,96)</sup>.

Porém os hidrogéis ainda apresentam limitações devido à distribuição irregular das reticulações em sua estrutura tridimensional resultando em materiais com baixa resistência e estabilidade principalmente no estado inchado. Para solucionar esses problemas, métodos de reticulação química e física são utilizados, porém, ao aumentar a quantidade de reticulação, há uma redução na capacidade de inchamento <sup>(113,114)</sup>.

Sendo assim, a presença de partículas ou nanopartículas na estrutura do hidrogel podem atuar como pontos de reticulação física melhorando as propriedades finais <sup>(113,114)</sup>. Constituintes inorgânicos bioativos tais como hidroxiapatita e/ou nano-hidroxiapatita ou óxidos metálicos magnéticos bioativos tem sido intencionalmente utilizado em compósitos de hidrogéis para melhorar sua funcionalidade biológica e suas propriedades mecânicas <sup>(115)</sup>.

### **3.5.1 Aplicações terapêuticas dos hidrogéis**

A importância dos hidrogéis como biomateriais se deve à semelhança de suas propriedades físicas com os tecidos vivos, tais como elevado conteúdo de água,

consistência macia e elástica <sup>(108)</sup>. Nos últimos anos, os hidrogéis tornaram-se candidatos promissores em *scaffolds* para engenharia de tecidos, pois possuem estruturas porosas hidrofílicas e apresentam vantagens para adesão celular, na entrega de nutrientes, na liberação de fármaco e ainda na regeneração do tecido <sup>(115)</sup>.

Nos sistemas de liberação controlada, hidrogéis têm sido propostos, para uma série de agentes bioativos, tais como contraceptivos, oftálmicos, antibióticos, antiarrítmicos, anticâncer, anticoagulantes, enzimas e anticorpos <sup>(111,97)</sup>

Os hidrogéis também são considerados “sistemas inteligentes” principalmente em sistemas de liberação de fármacos, pois apresentam uma resposta de inchamento seletiva dependendo das condições do meio (pH, temperatura, forças iônicas, etc) e dos diferentes homopolímeros e copolímeros dos quais são sintetizados <sup>(95,97)</sup>. O poli (N-vinil-2-pirrolidona) forma complexos poliméricos com o poli (ácido acrílico) através de pontes de hidrogênio e interações eletrostáticas e dependendo da composição do ácido acrílico estes hidrogéis podem responder a estímulos de pH <sup>(116,117)</sup>.

Na área de hidrogéis sensíveis a estímulos de pH, El-Rehim *et al* <sup>(118)</sup>, estudaram a irradiação de poli (N-vinilpirrolidona) na presença de ácido acrílico como gel carregador de drogas. Já Ravichandran *et al* <sup>(119)</sup>, estudaram a síntese de hidrogéis copolímeros de ácido acrílico e N-vinil-2-pirrolidona polimerizados na presença de polietilenoglicol e N.N'-metileno bisacrilamida (MBA), como gel liberador de droga em fluidos gástricos. Sohail, *et al* <sup>(102)</sup>, prepararam hidrogéis de polivinilpirrolidona/ácido acrílico com variações no conteúdo de monômero, polímero e agente de ligação cruzada para liberação do tramadol.

O copolímero poli (acrilamida-co-ácido acrílico) – (PAAm-co-AA), além de várias aplicações, tem sido utilizado principalmente na formação de hidrogéis para liberação de fármacos <sup>(120)</sup>. Bromberg *et al* <sup>(121)</sup> estudaram as propriedades reológicas e mucoadesivas de hidrogéis copolímeros em bloco (PEO-PPO-PEO) e poli (ácido acrílico). O poli (ácido acrílico) é o principal gelificante empregado em medicamentos e cosméticos, por exemplo, os anti-inflamatórios de uso tópico Cataflan<sup>®</sup> Emulgel e Feldene<sup>®</sup> Gel; produtos para o tratamento da acne e redução das linhas de expressão, como o Isotrex<sup>®</sup> e o Differin<sup>®</sup>; e, o gel Nenê Dent<sup>®</sup> N, para o alívio dos efeitos decorrentes da primeira dentição <sup>(122)</sup>.

### 3.5.2 Hidroxiapatita

Os primeiros estudos sobre a utilização de materiais cerâmicos como biomateriais começaram com Albee, em 1930, utilizando uma cerâmica de fosfato tricálcico para regenerar um defeito ósseo e para a formação de osso novo. Entretanto, somente 50 anos depois começaram a aparecer diferentes tipos de cerâmicas de fosfato de cálcio como materiais implantáveis para aplicação em medicina e odontologia <sup>(123)</sup>.

A grande aceitação das biocerâmicas a base de sais de fosfato de cálcio deve-se, principalmente, ao seu alto grau de biocompatibilidade, que está relacionada com a sua similaridade química a dos materiais normalmente encontrados no tecido ósseo. Entre cerâmicas com melhor desempenho, estão os biovidros, a alumina, o beta-fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) e a hidroxiapatita (HA). Desta forma o grande interesse pela HA como biomaterial, está relacionado com o fato de esta ser a principal fase mineral encontrada no tecido ósseo e por apresentar alta biocompatibilidade <sup>(123)</sup>.

A hidroxiapatita é o constituinte mineral natural encontrada no osso representando de 30 a 70% da massa dos ossos e dentes. O osso e outros tecidos calcificados podem ser considerados como compósitos naturais anisotrópicos que consistem de biominerais “mergulhados” em uma matriz de proteína, outros materiais orgânicos e água, como pode ser observado na Figura 15 <sup>(124)</sup>.

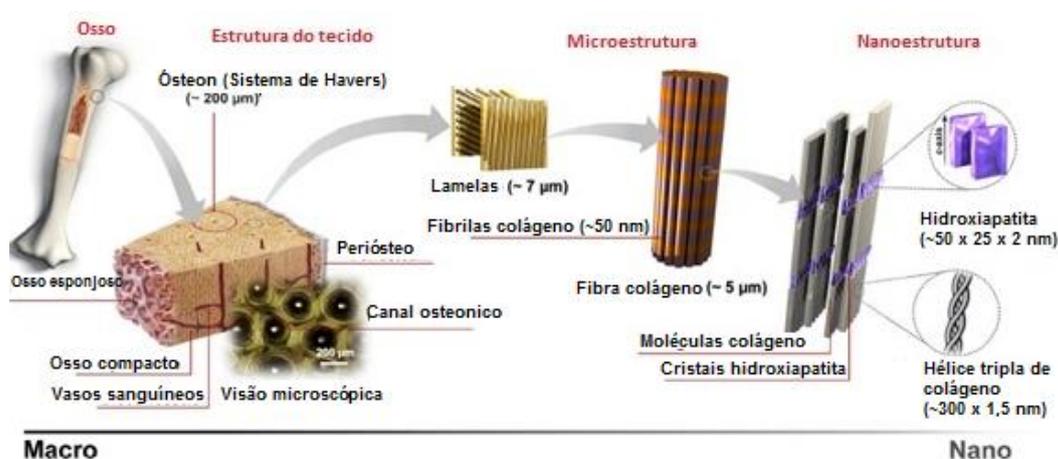


Figura 15 - A estrutura hierárquica do osso normal em várias escalas de comprimento <sup>(124)</sup>

A fase biomineral, que é um ou mais tipos de fosfatos de cálcio, compreende 65-70% de osso, a água representa 5-8% e a fase orgânica, a qual é, principalmente, na forma de colágeno <sup>(125)</sup>. O colágeno atua como uma matriz para a deposição e crescimento de minerais, sendo que esta fase dá ao osso a sua resistência elástica. Entre os sais de fosfato de cálcio (CaP), a hidroxiapatita tem a fase cristalina termodinamicamente mais estável que os CaP no fluido corpóreo e possui a maior semelhança com a parte mineral do osso <sup>(124)</sup>.

A hidroxiapatita sintética possui propriedades de biocompatibilidade e osteointegração, o que a torna substituta do osso humano em implantes e próteses, daí o grande interesse em sua produção <sup>(126,127)</sup>. Como material de implante a hidroxiapatita pode ser obtida por desproteinização de tecido ósseo ou por tratamento hidrotérmico de corais. Pode ser obtida também por processos sintéticos tais como, precipitação de soluções aquosas ou reações no estado sólido <sup>(123)</sup>.

Um grande número de técnicas está sendo desenvolvida para a síntese do pó de hidroxiapatita devido as crescentes aplicações. Atualmente, um dos métodos mais utilizados é a técnica de precipitação, que envolve reações via úmida entre precursores de fósforo e cálcio com controle de temperatura e pH da solução. O pó precipitado é calcinado em 400-600°C ou até mesmo a temperaturas mais elevadas, a fim de obter uma estrutura de apatita estequiométrica. A titulação lenta e as soluções diluídas devem ser utilizadas para melhorar a homogeneidade e a estequiometria da hidroxiapatita resultante <sup>(128)</sup>.

Hidroxiapatita deficiente em cálcio pode ser preparada por precipitação sob condições básicas com posterior tratamento térmico (temperaturas próximas de 1000°C) <sup>(126)</sup>. Landi *et al* <sup>(129)</sup> obtiveram hidroxiapatita carbonatada mediante a reação de neutralização de hidróxido de cálcio (Ca(OH)<sub>2</sub>) e ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Compostos de apatita também podem ser encontrados em minerais naturais como rochas ou esqueletos de algumas espécies marinhas <sup>(126,123)</sup>.

Assim, este trabalho propõe obter hidrogéis compósitos para revestimento em stents metálicos a partir do PVP em sistemas de liberação controlada da heparina sódica. A escolha do PVP com HA se deve as suas principais características de apresentar elevada biocompatibilidade.

#### 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Este trabalho foi desenvolvido em quatro etapas principais (Figura 16). Primeiramente foram determinadas as formulações, para a obtenção dos hidrogéis e hidrogéis compósitos, que melhor se adequavam à aplicação desejada. Após, foi avaliada a adição e liberação do fármaco nos hidrogéis. Em seguida, realizou-se a avaliação *in vitro* dos hidrogéis obtidos através do teste de hemocompatibilidade. E na etapa final, avaliou-se o recobrimento dos *stents*.

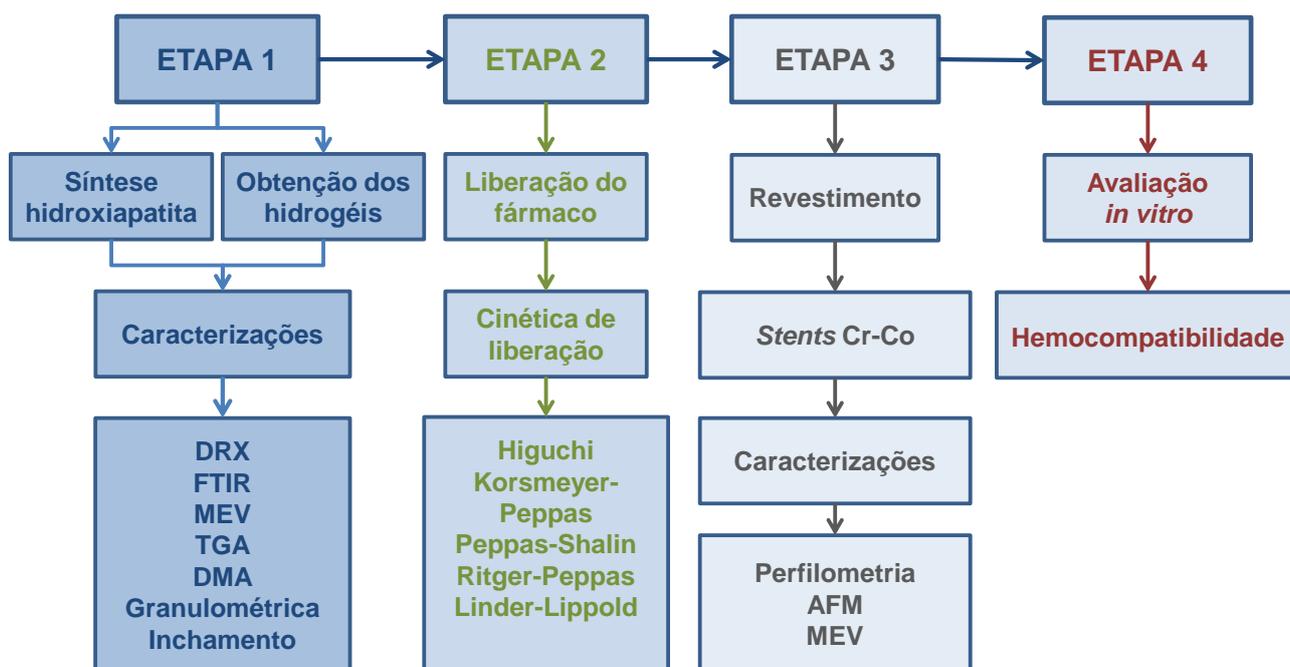


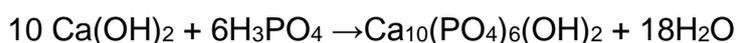
Figura 16 – Fluxograma das etapas desenvolvidas

#### 4.1 ETAPA 1: Hidroxiapatita e Hidrogéis

Síntese da hidroxiapatita e obtenção dos hidrogéis.

##### Síntese da hidroxiapatita por reação via úmida

A hidroxiapatita (HA) foi sintetizada pelo processo de reação via úmida utilizando hidróxido de cálcio e ácido fosfórico, ambos com concentração de 0,5 M e com a relação de Ca/P=1,67, conforme a seguinte reação:



O ácido fosfórico foi gotejado lentamente sobre o hidróxido de cálcio numa temperatura de 90°C, com agitação magnética, por 24 horas para a precipitação da hidroxiapatita. Após esse período o material foi seco em estufa e depois foi submetido à calcinação em uma mufla (SANCHIS N-1110), numa temperatura de 800°C em atmosfera de ar, durante 1 hora. O material obtido, após resfriamento, foi desagregado manualmente com almofariz e pistilo para obter um tamanho de partícula suficientemente pequeno, passante em malha de náilon especificação 20 ABNT (abertura de 850µm).

##### Obtenção dos hidrogéis

Os hidrogéis de poli (N-vinil-2-pirrolidona) (VP) e poli (N-vinil-2-pirrolidona-co-ácido acrílico) (VPAA) foram preparados por polimerização via radicais livres usando radiação UV. Como iniciador foi utilizado Azo-bis-isobutironitrila (AIBN). O composto bifuncional N,N'-metilenobisacrilamida (MBAM) foi utilizado como agente de reticulação e N,N,N',N'-tetrametiletenodiamina (TEMED) foi utilizado como catalisador da reação, conforme informações descritas na Tabela 4. As soluções aquosas foram preparadas em 70% em peso de água destilada, por conseguinte, a concentração de monômero foi de 30% em peso. A composição (em percentual) dos hidrogéis está listada na Tabela 5. Os componentes foram misturados e agitados durante 24 horas, após esse período a polimerização foi realizada por irradiação com lâmpada UV, durante 6 minutos à

temperatura ambiente. Os hidrogéis foram lavados com água destilada para remover os monômeros residuais.

Tabela 4 - Reagentes utilizados na síntese dos hidrogéis

Reagente	Abreviação	Pureza (%)	Fabricante, País
N-vinil-2-pirrolidona	VP	99	Aldrich, Alemanha
Ácido Acrílico	AA	98,5	Aldrich, Alemanha
N,N'-metilenobisacrilamida	MBAM	99	Aldrich, Alemanha
N,N,N',N'- tetrametiletilenodiamina	TEMED	99	Acros, Bélgica
Azo-bis-isobutironitrila	AIBN	99	Aldrich, Alemanha

Tabela 5 - Composição dos hidrogéis (%)

Codificação das amostras	VP	AA	HA*	MBAM	TEMED	AIBN
VP	30,0	-	-	2,0	0,025	3,0
VPAA	30,0	0,55	-	2,0	0,025	3,0
VPHA	30,0	-	1,0	2,0	0,025	3,0
VPAAHA	30,0	0,55	1,0	2,0	0,025	3,0

\*Hidroxiapatita sintetizada (conforme método descrito anteriormente)

### Obtenção dos hidrogéis dopados com fármaco

Para obtenção dos hidrogéis dopados com fármaco foram utilizados os hidrogéis VPHA e VPAAHA onde foram preparados conforme metodologia descrita anteriormente e a Hepamax-S 5.000 UI/mL (Blausiegel) foi o fármaco utilizado. A quantidade de heparina sódica presente em cada amostra foi de 26,5 mg (1 mL da solução de Hepamax-S) em 1,5 mL de solução do hidrogel. As soluções permaneceram sob agitação por 1 hora, em temperatura ambiente, e após esse período foram colocadas em um molde de silicone com formato retangular para a obtenção dos corpos-de-prova. O tempo de irradiação com lâmpada UV para a polimerização dos hidrogéis foi de 7 minutos. Em seguida os hidrogéis foram lavados com água destilada para remover os monômeros residuais.

## **4.2 ETAPA 2: Fármaco**

Os hidrogéis obtidos na etapa anterior foram avaliados quanto à adição e liberação do fármaco.

### **Liberação do fármaco**

No teste para verificar a liberação do fármaco foram utilizados tubos de ensaio, contendo a amostra de hidrogel (corpo-de-prova preparado anteriormente) e a solução tampão, colocados dentro de erlenmeyers sob agitação e aquecimento (temperatura aproximadamente de 37°C) com o objetivo de simular o sistema sanguíneo do nosso corpo. Após 24 horas foram coletadas com uma seringa alíquotas para análise. O restante das soluções de cada frasco foi descartado e 10 mL de solução tampão foram adicionados novamente, repetindo esse procedimento nas primeiras 8 horas e depois em tempos determinados por um período de 30 dias. As alíquotas coletas foram analisadas por espectroscopia no ultravioleta visível (UV/VIS) pelo método de turbidimetria. O teste foi realizado em triplicata para cada tipo de hidrogel.

### **Avaliação da cinética de liberação**

Os dados obtidos nos perfis de liberação foram submetidos a tratamentos matemáticos para a determinação da cinética de liberação, para isso foram aplicados cinco modelos matemáticos: Higuchi; Korsmeyer-Peppas; Ritger-Peppas; Peppas-Shalin e Linder-Lippold.

## **4.3 ETAPA 3: Avaliação *in vitro***

O hidrogel compósito poli (N-vinil-2-pirrolidona) foi avaliado quanto à hemocompatibilidade.

## **Ensaio de Hemólise**

O sangue humano (10 mL) foi centrifugado a 1500 X g por 20 min e o plasma obtido foi descartado. O concentrado de hemácias foi lavado por 3 vezes e após a última lavagem uma suspensão de hemácias à 10 % foi preparada em NaCl 0,9%. Para o ensaio de hemólise a suspensão de hemácias foi adicionada diretamente em uma placa de 24 poços (2 mL/poço) recoberta ou não com os hidrogéis (VPHA ou VPHA+HEPARINA). Os stents recobertos ou não com os hidrogéis (VPHA ou VPHA+HEPARINA) foram incubados com a suspensão de hemácias (2 mL) diretamente em um tubo de polipropileno. Tanto as placas quanto os tubos foram mantidos sob agitação leve durante todo o período do ensaio em temperatura ambiente. Após diferentes tempos de incubação (60, 120, 240, 360 e 1440 min), 0,1 mL da suspensão de hemácias foram coletados, centrifugados (1500 X g por 20 min) e o conteúdo de hemoglobina livre foi dosado no sobrenadante pela leitura da absorbância à 540 nm. A concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) de hemoglobina liberada durante o ensaio foi calculada com o auxílio de uma curva padrão de hemoglobina humana purificada.

### **4.4 ETAPA 4: Revestimento dos stents metálicos**

Primeiramente foi realizado o estudo da rugosidade dos substratos metálicos utilizando placas de Cr-Co com a finalidade de se obter a rugosidade adequada e melhorar a adesão do revestimento na superfície metálica. Em seguida o hidrogel compósito (VPHA e VPHAHP) foi utilizado como revestimento dos stents metálicos (Cr-Co eletropolidos).

### **Tratamento eletroquímico**

Para avaliar o tratamento eletroquímico discos metálicos (diâmetro 11 mm) foram utilizados como substratos. Os discos foram lixados manualmente com lixa 320 de carboneto de silício. Em seguida, foram colocados em uma solução 3% desengordurante sob aquecimento (temperatura de aproximadamente 65°C) durante 10 minutos e após foram lavados com água. Depois desse processo de limpeza os discos foram eletropolidos.

Para o polimento eletroquímico foi utilizado uma solução de etilenoglicol e ácido sulfúrico e aço inoxidável como eletrodo. Os parâmetros operacionais foram: voltagem de

50 volts, temperatura de 40°C e tempo de 1 minuto. Após as amostras foram lavadas com água destilada e álcool etílico.

### **Revestimento dos stents**

O revestimento foi realizado através da imersão dos stents (eletropolidos) na solução do polímero por 30 segundos e em seguida foram expostos a irradiação da lâmpada UV durante 5 minutos, em temperatura ambiente, para a polimerização do hidrogel.

## **4.5 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO**

As seguintes técnicas foram utilizadas para caracterizar o pó de hidroxiapatita obtido por reação via úmida e os hidrogéis obtidos por polimerização via radiação UV, bem como a liberação do fármaco e a caracterização da superfície metálica.

### **Difração de Raios X**

Por meio desta técnica foi possível analisar as fases cristalinas obtidas. Foi utilizado para esta análise o Difratômetro Phillips X'Pert MPD com tubo de cobre (radiação  $K\alpha = 1,5418 \text{ \AA}$ ). A tensão e a corrente utilizadas no tubo foram 40 KV e 40 mA, respectivamente, para a obtenção do difratograma. A velocidade de varredura do goniômetro foi de 0,05°/s, sendo o intervalo de varredura de 10° a 75°. Para a realização deste ensaio o pó foi compactado num porta-amostra.

### **Espectroscopia de Infravermelho**

Esta técnica foi utilizada como complemento à técnica de difração de raios X para o pó da hidroxiapatita e também para detectar as frequências de vibração das ligações químicas dos hidrogéis. Nesta técnica, as amostras foram caracterizadas num intervalo de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  em um espectrômetro PerkinElmer *Spectrum 1000*. Para tanto, fez-se necessária à confecção de uma pastilha de KBr envolvendo o pó em questão.

### **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A análise por microscopia teve como objetivo analisar a microestrutura dos hidrogéis obtidos, verificar a incorporação da hidroxiapatita e avaliar o revestimento dos stents. O equipamento utilizado foi um microscópio eletrônico de varredura Jeol modelo JSN 6060, com as seguintes condições de análise: para o pó de hidroxiapatita e hidrogéis foi 15 keV com aumentos de 3000, 7000, 400 e 800 vezes e para os stents foi 10 keV com aumentos de 450, 1500, 2500 e 4500 vezes.

### **Análise termogravimétrica (TGA)**

A análise termogravimétrica permite acompanhar a perda de massa que ocorre em uma amostra devido à elevação da temperatura ou do tempo de análise. Variações na massa ocorrem devido a transformações químicas ou físicas, como perda de material por volatilização, decomposição ou vaporização. As análises de TGA foram feitas em um aparelho da TA Instruments modelo 2050, sob atmosfera de N<sub>2</sub>. As análises foram realizadas no intervalo de temperatura de 25°C a 800°C com taxa de aquecimento de 20°C/min. A quantidade de amostra utilizada foi de aproximadamente 10 mg.

### **Análise dinâmico-mecânica (DMA)**

A análise de DMA é uma técnica que estuda propriedades de materiais em função da temperatura, do tempo ou da frequência, de uma deformação e/ou a combinação destes parâmetros. Através desta técnica é possível relacionar as propriedades macroscópicas, como as propriedades termomecânicas, com relaxações moleculares as quais podem ser ocasionadas por mudanças conformacionais e/ou deformações microscópicas geradas pela movimentação molecular <sup>(130)</sup>.

As propriedades dinâmico-mecânicas dos hidrogéis foram obtidas usando um equipamento TA Instruments model DMA 2980. O ensaio foi realizado a uma temperatura (constante) de 37°C, variando a frequência de 1 a 10 Hz. O módulo de armazenamento (E') e o módulo de perda (E'') foram obtidas em função da frequência .

## Teste de inchamento

A cinética de inchamento foi realizada através de medições da absorção de água do hidrogel em função do tempo. Amostras de hidrogel foram colocadas em água destilada, à temperatura ambiente. A massa de gel inchado foi medida a diferentes intervalos de tempo até que o equilíbrio fosse atingido. A absorção de água foi calculada de acordo com a equação:

$$W_{at} = (W_{st} - W_0)/W_0$$

onde  $W_{at}$  é o peso da água absorvida pelo hidrogel no tempo  $t$ ,  $W_{st}$  é o peso do hidrogel inchado no tempo  $t$ ,  $W_0$  é o peso inicial da amostra de hidrogel.

## Análise de Perfilometria

A técnica de perfilometria é empregada para quantificar a topografia superficial de um material. As microrugosidades das superfícies foram avaliadas pelo perfilômetro (PRO500 3D), que consiste em uma sonda de contato que se move sobre a superfície do material com 500 $\mu$ m de comprimento e (até) 500 $\mu$ m de profundidade (graus de liberdade). A topografia foi analisada e a rugosidade  $R_a$  foi obtida.

## Microscopia de Força Atômica (AFM)

A microscopia de força atômica é uma importante ferramenta para a investigação de estruturas nanométricas permitindo imagens em três dimensões. Essa técnica foi empregada para a observação da morfologia e da rugosidade das superfícies obtidas. Usou-se um microscópio de varredura por ponta de prova (SPM – scanning probe microscope) da marca SHIMADZU, modelo SPM – 9500J3. As imagens foram obtidas com o microscópio de força atômica operando em modo de contato, com sondas de nitreto de silício (NANOSENSORS) e scanner com área de varredura de 3  $\mu$ m x 3  $\mu$ m. A avaliação da rugosidade da superfície através do AFM foi realizada através das medidas de  $R_a$  (média entre a rugosidade da superfície em nanômetros).

## **Análise turbidimétrica**

As determinações turbidimétricas foram realizadas adicionando-se 0,5 mL da amostra contendo heparina, 0,5 mL de solução tampão e 2 mL de solução de cloreto de cetilpiridínio 0,1% (m/v) e NaCl 0,94% (m/v). O branco foi preparado da mesma forma utilizando 0,5 mL do veículo excetuando a adição do fármaco. Os frascos foram agitados a 37°C por 1 hora. Todas as análises foram realizadas em espectrofotômetro UV – visível Varian Cary 100 utilizando células de quartzo com caminho óptico de 1cm e comprimento de onda de leitura 290 nm <sup>(70)</sup>.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ETAPA 1: Caracterização da hidroxiapatita e hidrogéis

O ensaio de difração de raios X (DRX) mostrou que houve a formação de hidroxiapatita pura e os picos correspondem à ficha padrão de difração de número 09-0432 do *Joint Committee on Powder Diffraction Standards – JCPDS*. A Figura 17 apresenta o difratograma do pó da hidroxiapatita e pode ser observado que todos os picos estão associados somente à fase HA, não havendo a formação de outros compostos baseados no sistema Ca-P, como por exemplo  $\beta$ -TCP (cimento fosfato tricálcico) e CaO (óxido de cálcio). Esse resultado está de acordo com os difratogramas apresentados por Volkmer *et al*<sup>(131)</sup> e Netz *et al*<sup>(132)</sup>.

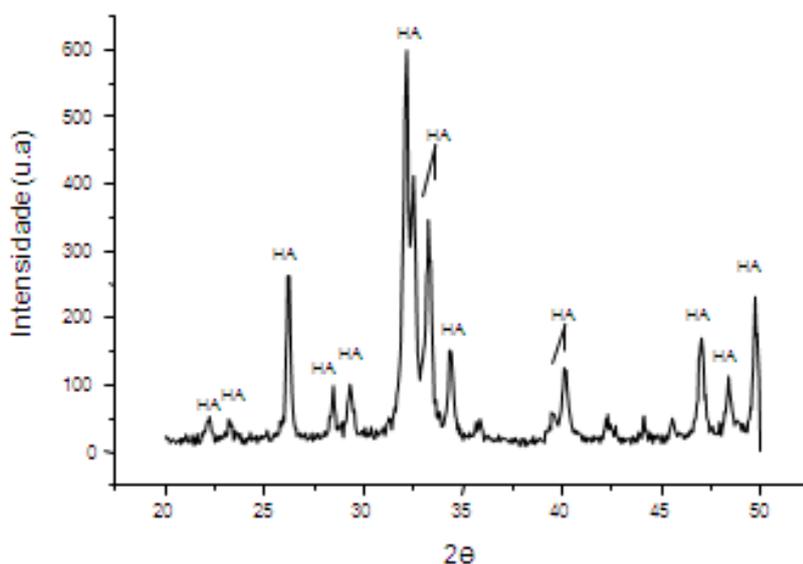


Figura 17 - Difratograma de raios X do pó da hidroxiapatita

Na caracterização por espectroscopia de infravermelho da hidroxiapatita mostrou que os principais picos são atribuídos aos grupos funcionais de ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) e hidroxilas ( $\text{OH}^-$ ). No espectro da Figura 18 estão presentes as bandas que caracterizam a fase HA onde em  $470\text{ cm}^{-1}$ ,  $565\text{ cm}^{-1}$ ,  $603\text{ cm}^{-1}$  correspondem ao modo de estiramento do grupamento  $\text{PO}_4^{3-}$ ; já em  $1037\text{ cm}^{-1}$  e  $1091\text{ cm}^{-1}$  tem-se os picos referentes à vibração de

deformação do grupo  $\text{PO}_4^{3-}$ . O grupo  $-\text{OH}$  estrutural refere-se ao pico em  $3442\text{ cm}^{-1}$  e em  $1634\text{ cm}^{-1}$  corresponde à água absorvida.

De acordo com Volkmer *et al* <sup>(131)</sup> a principal característica (determinante) da HA é um pico bem definido em torno de  $630\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a um triplete no qual está relacionado as ligações  $\text{PO}_4^{3-}$  em  $601$  e  $570\text{ cm}^{-1}$  com a ligação  $-\text{OH}$  do grupo apatita em  $630\text{ cm}^{-1}$ . Outro pico correspondente ao grupo  $-\text{OH}$  estrutural é em torno de  $3570\text{ cm}^{-1}$ .

Rigo *et al* <sup>(133)</sup>, também apresentam os picos, característicos da fase HA, correspondentes ao grupamento  $\text{PO}_4^{3-}$  em  $491\text{ cm}^{-1}$ ,  $563\text{ cm}^{-1}$ ,  $603\text{ cm}^{-1}$ ,  $1043\text{ cm}^{-1}$  e  $1088\text{ cm}^{-1}$  e referentes ao grupamento  $-\text{OH}$  os picos em  $636\text{ cm}^{-1}$  e  $3574\text{ cm}^{-1}$ . Já a banda em  $871\text{ cm}^{-1}$  representa as vibrações moleculares do grupo  $\text{CO}_3^{2-}$ , no qual indica a presença da hidroxiapatita carbonatada. As bandas encontradas em  $962\text{ cm}^{-1}$  e  $2970\text{ cm}^{-1}$  são características da hidroxiapatita deficiente em cálcio ou também denominada de fosfato de cálcio amorfo (Volkmer). Sendo assim, a ausência dessas bandas no espectro da Figura 18 ressalta a presença da hidroxiapatita pura, confirmando o resultado encontrado na análise de difração de raios X.

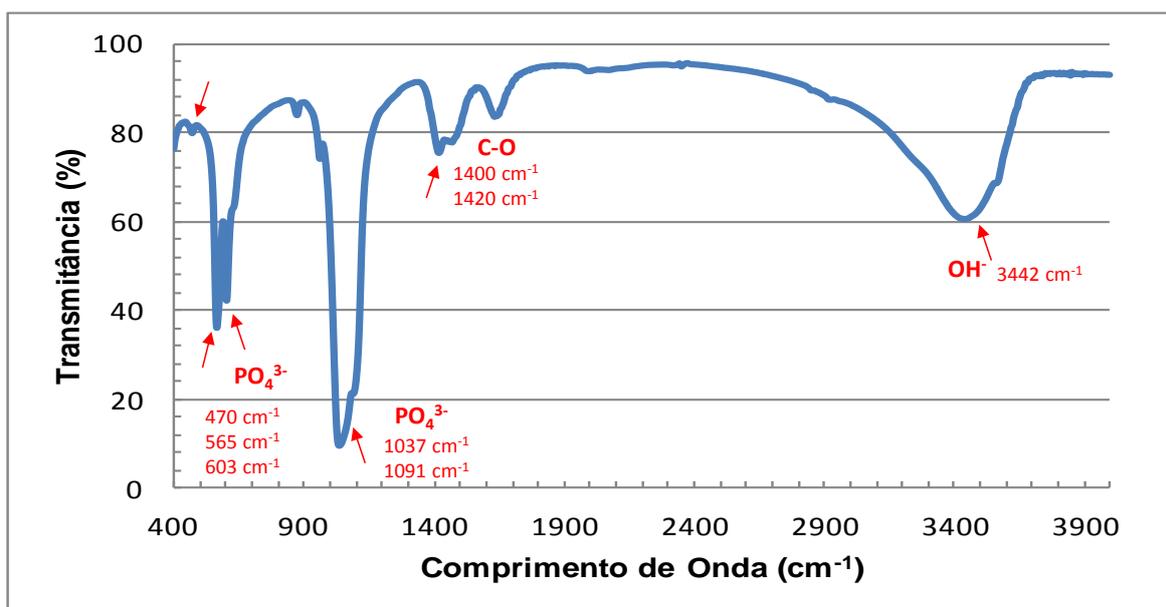


Figura 18 - Espectro de infravermelho da hidroxiapatita.

A morfologia do pó obtido após a calcinação é observada através das micrografias (diferentes aumentos) apresentadas na figura 19. Observa-se que o pó apresenta partículas levemente esféricas que estão aglomeradas. Isso pode estar relacionado com a preparação do pó antes de ser analisado, no qual mostra que o método utilizado não foi adequado, pois as partículas ainda estão muito aglomeradas. De acordo com Rigo *et al* <sup>(133)</sup> e Santos *et al* <sup>(134)</sup>, as partículas menores (escalas micro e nanométricas) tendem a formar aglomerados, conduzindo a formação de poros entre si, que por sua vez, se tornam benéficos pois permitem a circulação do fluido fisiológico quando são utilizados na superfície de um biomaterial.

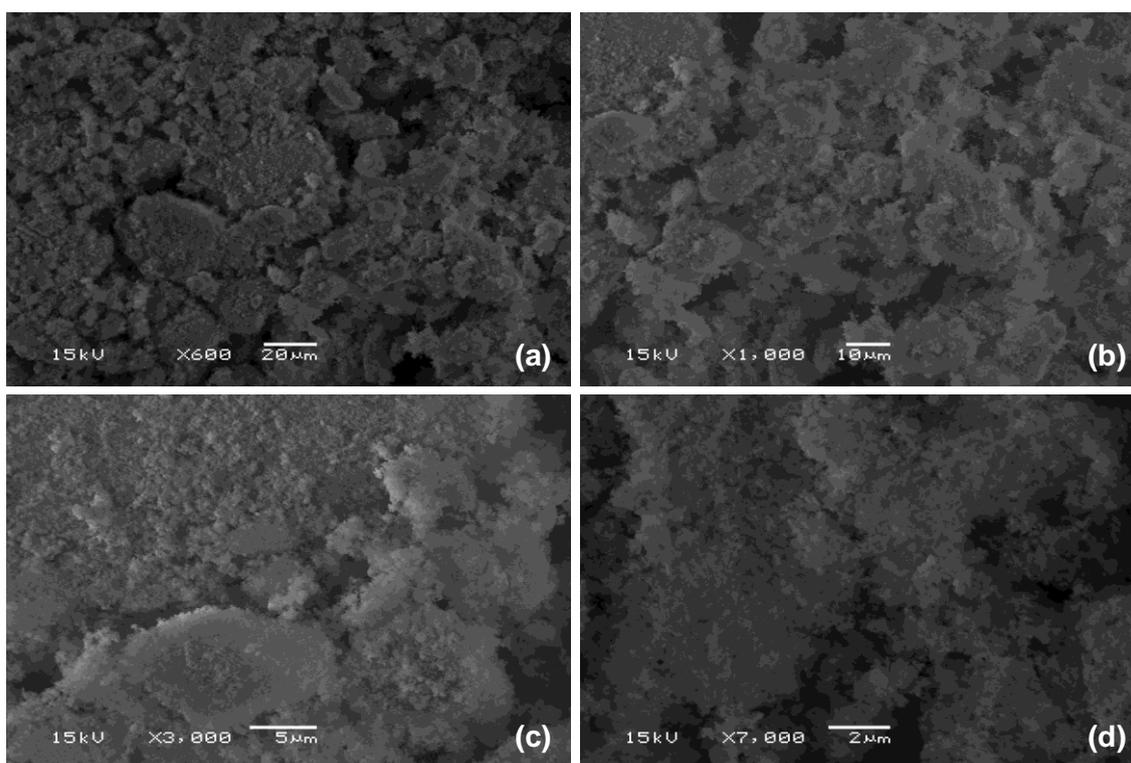


Figura 19 – Micrografias MEV do pó da hidroxiapatita em aumentos (a) 600x, (b) 1000x, (c) 3000x e (d) 7000x.

A determinação da distribuição e tamanho das partículas do pó de hidroxiapatita foi realizada através do método de difração a laser. Para se obter uma melhor dispersão das partículas a solução (HA + álcool) foi submetida ao ultrassom por 60 segundos. Os resultados da análise granulométrica do pó de HA encontram-se descritos na Tabela 6 e representados na Figura 20.

Analisando os resultados obtidos para o pó de HA após a etapa de calcinação, tem-se que 10% das partículas possuem diâmetro de até 1,12  $\mu\text{m}$ , 50% das partículas possuem diâmetro de até 6,88  $\mu\text{m}$  e 90% das partículas possuem diâmetro de até 33,01  $\mu\text{m}$ . Resultando em um diâmetro médio de 12,98  $\mu\text{m}$ .

Comparando os tamanhos de partículas obtidos pela granulometria com as micrografias, pode-se observar que mesmo as partículas estando aglomeradas apresentam tamanhos inferiores dos valores encontrados na distribuição de tamanho, pois o equipamento utilizado não possibilita a total desaglomeração do pó.

Tabela 6 - Distribuição e tamanho médio das partículas do pó de HA

Menor que	Diâmetro ( $\mu\text{m}$ )
10%	1,12
50%	6,88
90%	33,01
diâmetro médio	12,98

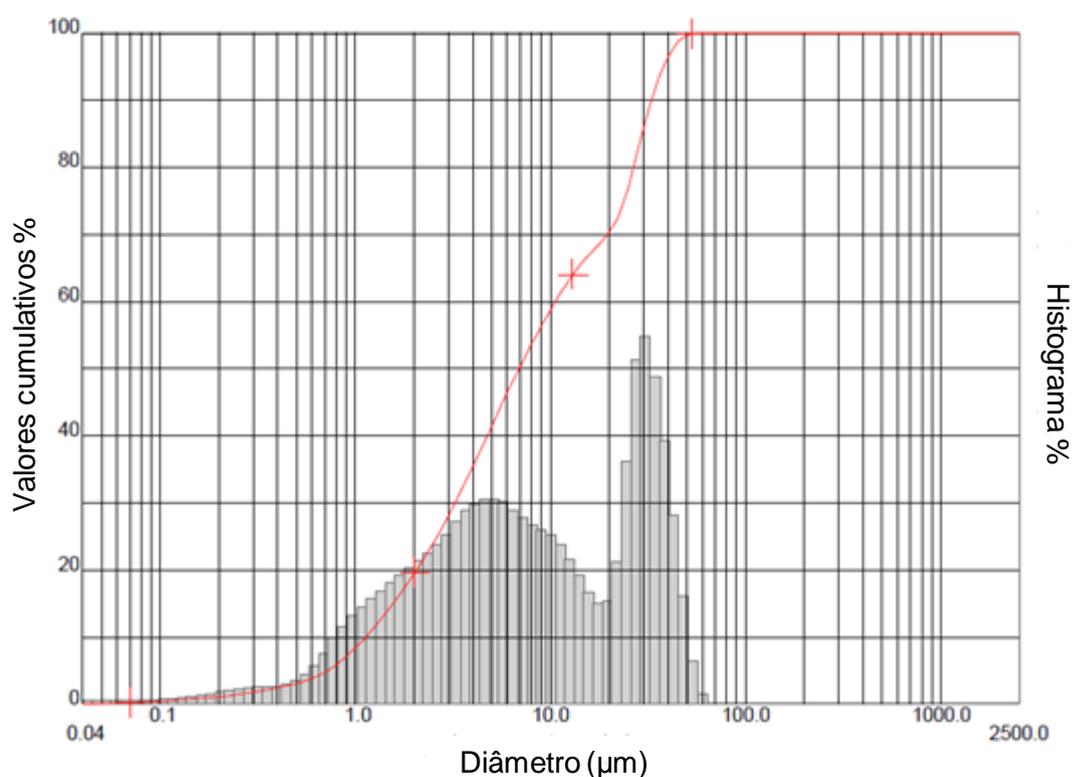


Figura 20 - Granulometria do pó HA

A Figura 21 apresenta as principais bandas dos hidrogéis e da heparina sódica. No espectro da poli (N-vinil-2-pirrolidona) estão presentes as bandas de absorção características a  $3448\text{ cm}^{-1}$  associadas com a frequência do estiramento CN e OH, em  $2954\text{ cm}^{-1}$  ao estiramento  $\text{CH}_2$  e  $1666\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento C=O. Para o espectro do ácido acrílico as bandas de absorção características são em  $3435\text{ cm}^{-1}$ ,  $2958\text{ cm}^{-1}$  e  $1729\text{ cm}^{-1}$  dos estiramentos OH,  $\text{CH}_2$  e C=O respectivamente. As bandas em  $1462\text{ cm}^{-1}$  e  $1420\text{ cm}^{-1}$  a deformação CH. A hidroxiapatita pode ser observada pela presença dos picos  $1091\text{ cm}^{-1}$ ,  $1032\text{ cm}^{-1}$ ,  $601\text{ cm}^{-1}$  e  $564\text{ cm}^{-1}$  referentes ao agrupamento  $\text{PO}_4^{3-}$ . Os valores dos picos encontrados estão de acordo com a literatura <sup>(135,136)</sup>.

Os picos entre  $1666\text{ cm}^{-1}$  e  $1729\text{ cm}^{-1}$  referem-se ao grupamento C=O dos dois polímeros, que segundo Jin *et al* <sup>(137)</sup> indica a presença das ligações intermoleculares de pontes de hidrogênio devido aos grupos carbonila. De acordo com Sohail *et al* <sup>(102)</sup>, as bandas do complexo carbonila são mais amplas do que nos monômeros puros de PVP e AA, evidenciando as ligações de hidrogênio intermoleculares. O estiramento N-H que se estende entre  $3330$  e  $3060\text{ cm}^{-1}$  e o estiramento C-N em  $1650\text{ cm}^{-1}$  indicam a presença do agente de reticulação (MBA).

Segundo Jovanovic *et al* <sup>(138)</sup> a principal característica do espectro de PVP, cujo monômero, N-vinil-2-pirrolidona, contendo o grupo carbonila amida se refere ao pico em  $1666\text{ cm}^{-1}$  e os picos em  $3441\text{ cm}^{-1}$  e  $2953\text{ cm}^{-1}$  correspondem respectivamente ao estiramento OH e  $\text{CH}_2$ . Já para Bajpai *et al* <sup>(139)</sup> e Jankaew *et al* <sup>(140)</sup>, o pico característico para o ácido acrílico é em  $1759\text{ cm}^{-1}$  referente ao C=O do grupo carboxílico ( $\text{COO}^-$ ) e a presença de uma banda larga em  $3220\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$  que é característico dos dois polímeros devido as hidroxilas ligadas ao H. Seman *et al* <sup>(141)</sup> identificaram o aparecimento de um novo pico em  $1637\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$  que representa o grupo C=C-N, enquanto que o pico  $1670\text{-}1678\text{ cm}^{-1}$  é referente ao estiramento da banda amida I do grupo carbonila do PVP.

No espectro da heparina verifica-se a presença dos picos referentes aos grupos funcionais existentes na sua cadeia polimérica, tais como, OH, CH, NH e C=O <sup>(142)</sup>. Os principais picos são: em  $3459\text{ cm}^{-1}$  o pico de estiramento da ligação OH do  $\text{COOH}$ , em  $2937\text{ cm}^{-1}$  o pico de estiramento C-H, em  $1630\text{ cm}^{-1}$  o pico característico da ligação C=O, em  $1434\text{ cm}^{-1}$  o pico referente à deformação axial do grupo C-O, em  $1256\text{ cm}^{-1}$  a deformação assimétrica do grupo C-O-C e em  $1054\text{ cm}^{-1}$  a deformação axial simétrica do grupo C-O-C, os picos em  $827\text{ cm}^{-1}$ ,  $720\text{ cm}^{-1}$  e  $608\text{ cm}^{-1}$  referentes ao estiramento do grupo N-H fora do plano.

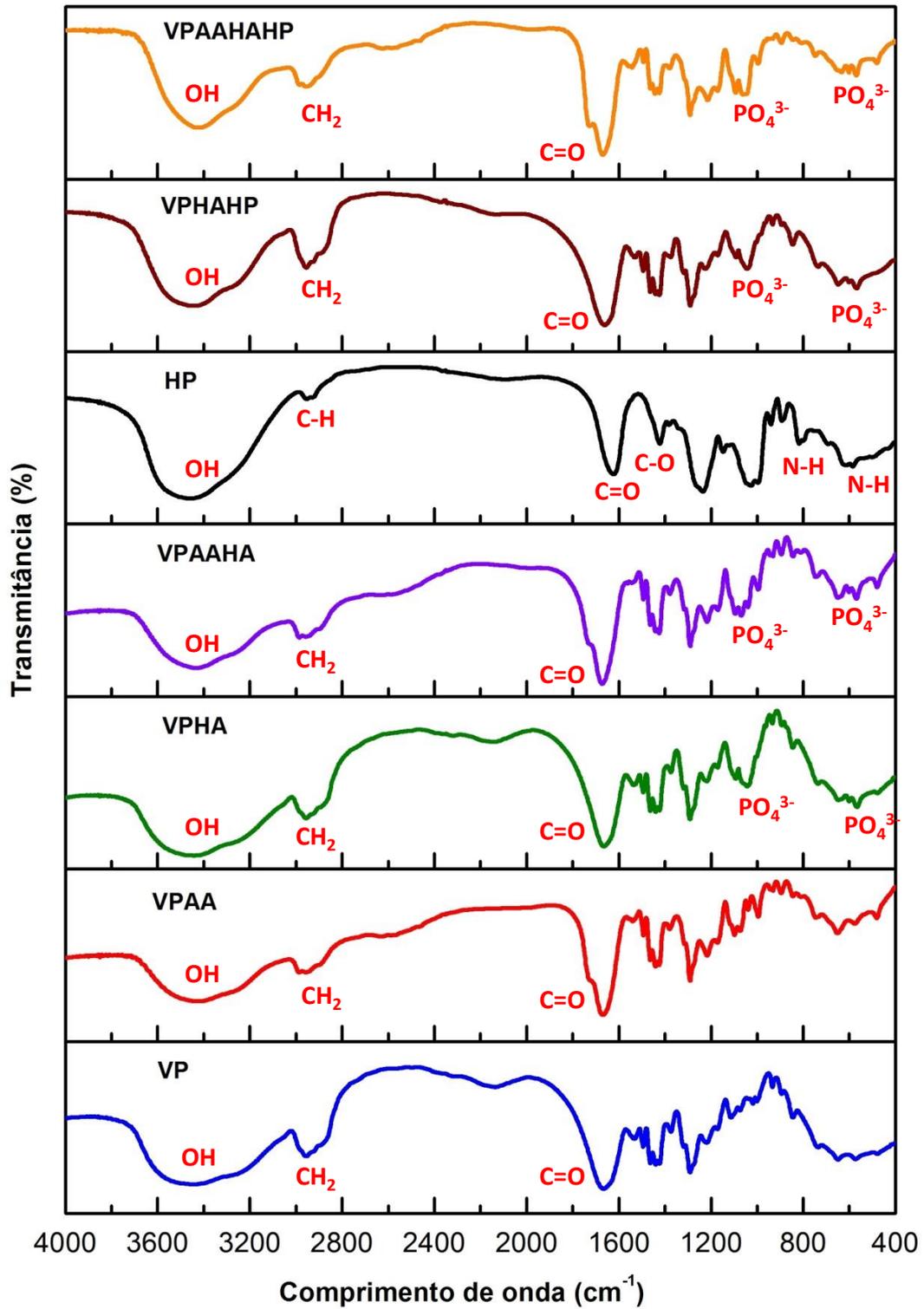


Figura 21 - Espectro de infravermelho dos hidrogéis.

A análise termogravimétrica envolve a medida da variação da massa de uma amostra sob a forma de produtos voláteis, como uma função da temperatura ou do tempo. A Figura 22 mostra as curvas de perda de massa em função da temperatura e podem ser verificados dois eventos pronunciados de perda mássica. Inicialmente, em torno de 120°C, ocorre uma perda gradual da massa dos hidrogéis com o aumento da temperatura e isso pode estar atribuído à perda de água adsorvida ou água ligada. O estágio principal de perda de massa dos hidrogéis ocorre em torno de 400°C que corresponde a decomposição do polímero VP. Já para os hidrogéis com a presença de AA, além desse estágio principal, ocorre em torno de 270°C outro evento, que está relacionado à degradação do ácido acrílico. Sendo assim, devido ao aumento da temperatura ocorre a degradação dos polímeros (materiais) restantes.

Ortega *et al*<sup>(143)</sup> e Ferro *et al*<sup>(144)</sup>, também relataram que a degradação do polímero PVP ocorre em torno 400°C e do ácido acrílico em 280°C.

A heparina comercial (sólida) apresenta três etapas de perda mássica, mostrando-se resistente à degradação térmica, sendo que a primeira etapa ocorre em torno de 100°C está associada à eliminação de moléculas de água. Em 250°C ocorre a segunda etapa de perda mássica (em torno de 40%), apresentando certa resistência até aproximadamente 700°C quando ocorre novamente a degradação (mas não total) do material (aproximadamente 30% de resíduo)<sup>(145)</sup>.

Comparando os percentuais de perda mássica dos hidrogéis com a heparina sódica, pode-se observar uma variação significativa com relação aos demais hidrogéis (sem HP), verificando um deslocamento nas curvas de degradação. Portanto o VPHAHP apresenta o menor percentual de perda mássica (degrada menos) já o VPAAHHP apresenta um percentual de perda maior (degrada mais). Isto pode estar atribuído, devido à proximidade das temperaturas de degradação do ácido acrílico e da heparina.

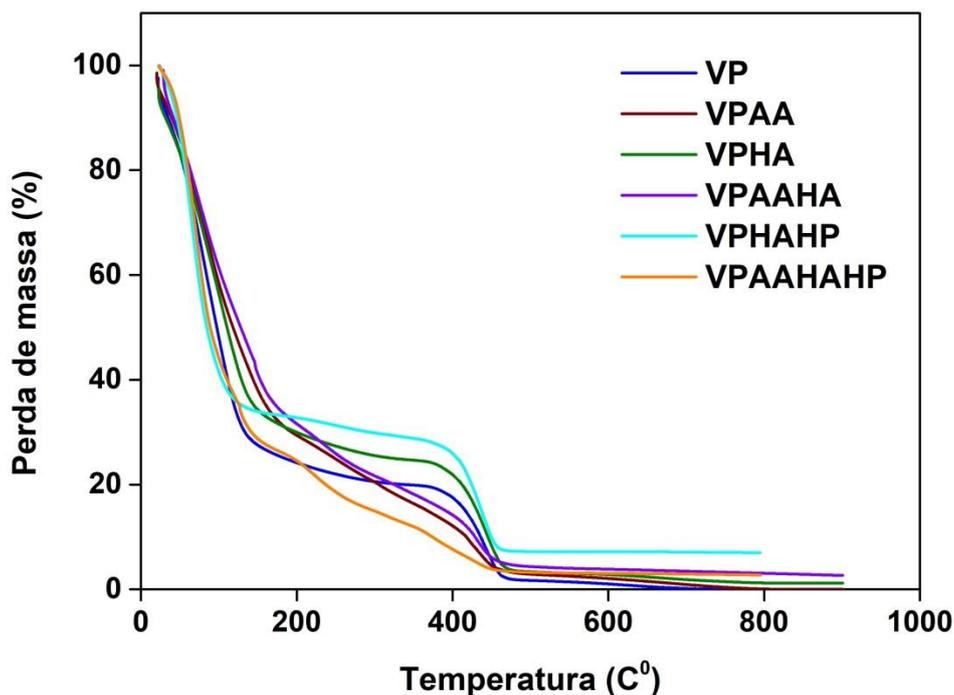


Figura 22 - Termograma TGA dos hidrogéis

A caracterização viscoelástica de um hidrogel constituído de cadeias reticuladas (rede tridimensional) foi realizada a partir de um experimento de varredura de frequência avaliando o comportamento dos módulos de armazenando (resposta elástica) e de perda (resposta viscosa).

A Figura 23 mostra os módulos de armazenamento e de perda em função da frequência, com temperatura constante em 37°C. Pode ser observado que aumentando a frequência ocorre um aumento nos módulos, ou seja, diminuindo o tempo de relaxação, ocorre uma redução na flexibilidade das amostras tornando-as mais rígidas. Também pode ser verificado que as partículas de hidroxiapatita não atuaram como material de reforço nestas composições de hidrogéis. O não acoplamento das partículas de HA ao hidrogel pode ser benéfico para a aplicação pretendida, mantendo os valores de módulo elástico mais próximos aos tecidos moles, e auxiliando na biocompatibilidade do material em virtude da elevada biocompatibilidade da HA.

Mesmo apresentando valores relativamente baixos (em comparação aos polímeros), o módulo de armazenamento dos hidrogéis é maior que o módulo de perda em toda a faixa de frequência de viscoelasticidade, sendo assim, o comportamento elástico dos hidrogéis predomina sobre o comportamento viscoso. Isto reforça uma de suas principais

características, que é de apresentar consistência elástica devido à quantidade de água que podem reter em sua estrutura <sup>(95)</sup>.

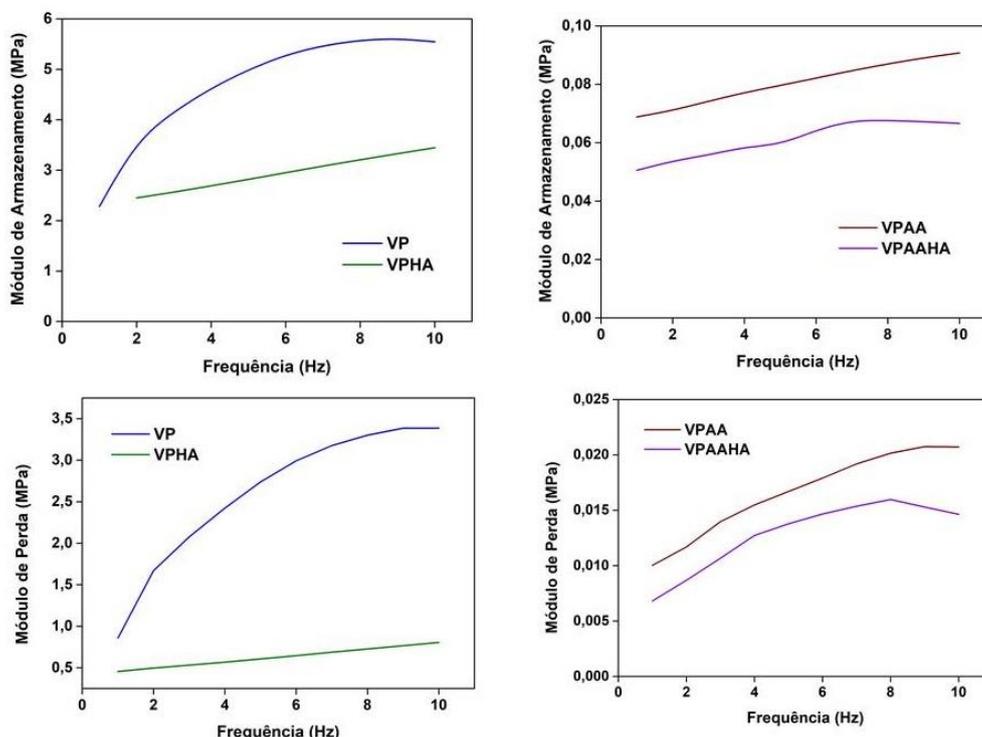


Figura 23 - Diagramas DMA dos hidrogéis - módulos de armazenamento e de perda em função da variação da frequência

O comportamento de inchamento dos hidrogéis exerce um papel importante no controle da liberação do fármaco. Além das características peculiares dos hidrogéis, alguns fatores podem alterar o seu comportamento (pH, temperatura, tempo de irradiação, adição de outros componentes, etc), portanto requerem uma certa atenção <sup>(102)</sup>.

A figura 24 apresenta o comportamento de inchamento dos hidrogéis em função do tempo de imersão e é possível observar diferentes percentuais de inchamento, sendo este, influenciado pela composição dos hidrogéis. Verifica-se que o inchamento dos hidrogéis aumenta com o aumento do tempo de imersão, porém os hidrogéis sem a presença do ácido acrílico apresentam um percentual de absorção de água mais elevado (aproximadamente o dobro).

Isto pode ser atribuído ao complexo inter-polímero formado entre o PVP e AA, através de ligações intermoleculares de pontes de hidrogênio, conforme foi anteriormente descrito e apresentado nos espectros de FTIR. Essas ligações, ou seja, a rede tridimensional formada resulta em uma restrição na mobilidade das cadeias poliméricas influenciando diretamente no comportamento de inchamento dos hidrogéis. Sendo assim, a difusão da água de fora para dentro nesses hidrogéis se torna mais difícil resultando em um percentual de inchamento menor. Esse comportamento também foi reportado (relatado) por outros autores <sup>(118)</sup>.

Jin *et al* <sup>(146)</sup>, relataram que nestes complexos formados por PVP/AA também existe uma interação hidrofóbica significativa devido à inerente hidrofobicidade da estrutura carbono-carbono. Portanto, isto pode contribuir para os menores percentuais de inchamento nos hidrogéis com ácido acrílico.

Também pode ser observado que a presença das partículas de hidroxiapatita tenha interferido no comportamento de inchamento dos hidrogéis, ou seja, as pequenas partículas podem ter dificultado o processo de absorção de água, pelo travamento da estrutura polimérica, o que de certa forma é benéfico quando se trata de sistemas de liberação controlada de fármacos.

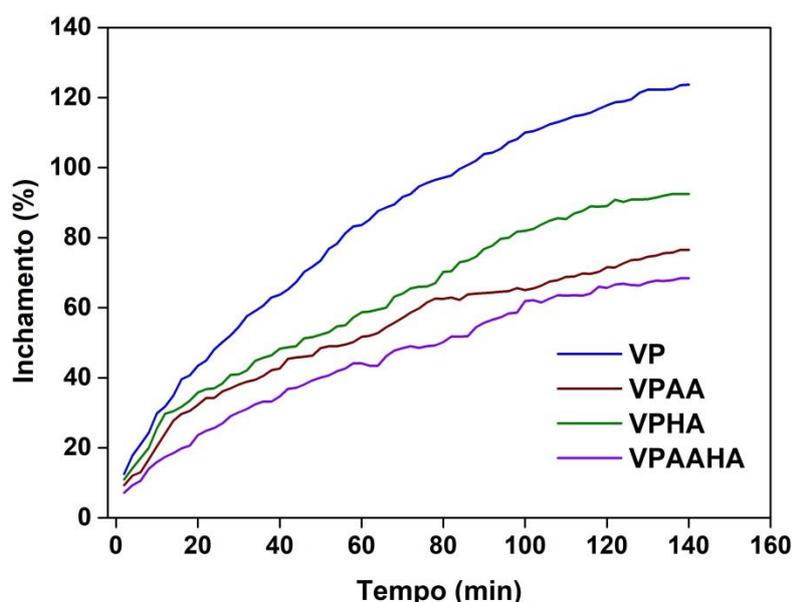


Figura 24 - Absorção de água dos hidrogéis

Analisar a estrutura morfológica dos hidrogéis também é um parâmetro importante para os sistemas de liberação controlada de fármaco. A figura 25 apresenta as micrografias

dos hidrogéis (VP e VPAA), dos hidrogéis compósitos (VPHA e VPAAHA) e dos hidrogéis compósitos com a incorporação da heparina sódica (VPHAHA e VPAAHAHP).

Pode-se perceber que o hidrogel com ácido acrílico, figura 25 (b), apresenta uma superfície rugosa e segundo Abu Seman *et al* <sup>(147)</sup> essa rugosidade superficial pode influenciar na incorporação (agregação) de outros materiais, por exemplo, na incrustação de moléculas quando o seu tamanho apresenta escala de rugosidade semelhante. As figuras 25 (c), (d), (e) e (f) apresentam as microscopias eletrônicas de varredura das amostras, onde observamos porosidade na sua superfície das composições, sendo mais perceptível nas figuras 25 (d) e (f). Pode-se perceber também que a hidroxiapatita, nas figuras 25 (c) e (e), está distribuída mais uniformemente, apresentando uma superfície mais homogênea. A porosidade pode estar diretamente relacionada com três fatores: peso molecular e tamanho de cadeia; formação do complexo inter-polímero (reticulação) e a interação do fármaco com esses polímeros.

O PVP forma poros maiores, porém em menor quantidade devido ao seu elevado peso molecular e ao comprimento da cadeia <sup>(102)</sup>. Conforme já constatado na análise de FTIR, os hidrogéis com ácido acrílico formam o complexo inter-polímero, através das ligações intermoleculares de pontes de hidrogênio (aumento da reticulação). Isto resulta na aproximação das cadeias e conseqüentemente na redução dos espaços livres aumentando a quantidade de poros (poros menores).

Com relação à interação do fármaco com os polímeros, dependendo da natureza dos grupos funcionais de ambos essas interações podem de fato existir. Conforme já descrito na literatura, a heparina pode ser conjugada (ligada) com compostos orgânicos visando tornar o fármaco mais hidrofóbico <sup>(142)</sup>. Portanto para estas composições de hidrogéis, a heparina sódica tem uma forte tendência a formar interações com os grupos carboxílicos do ácido acrílico.

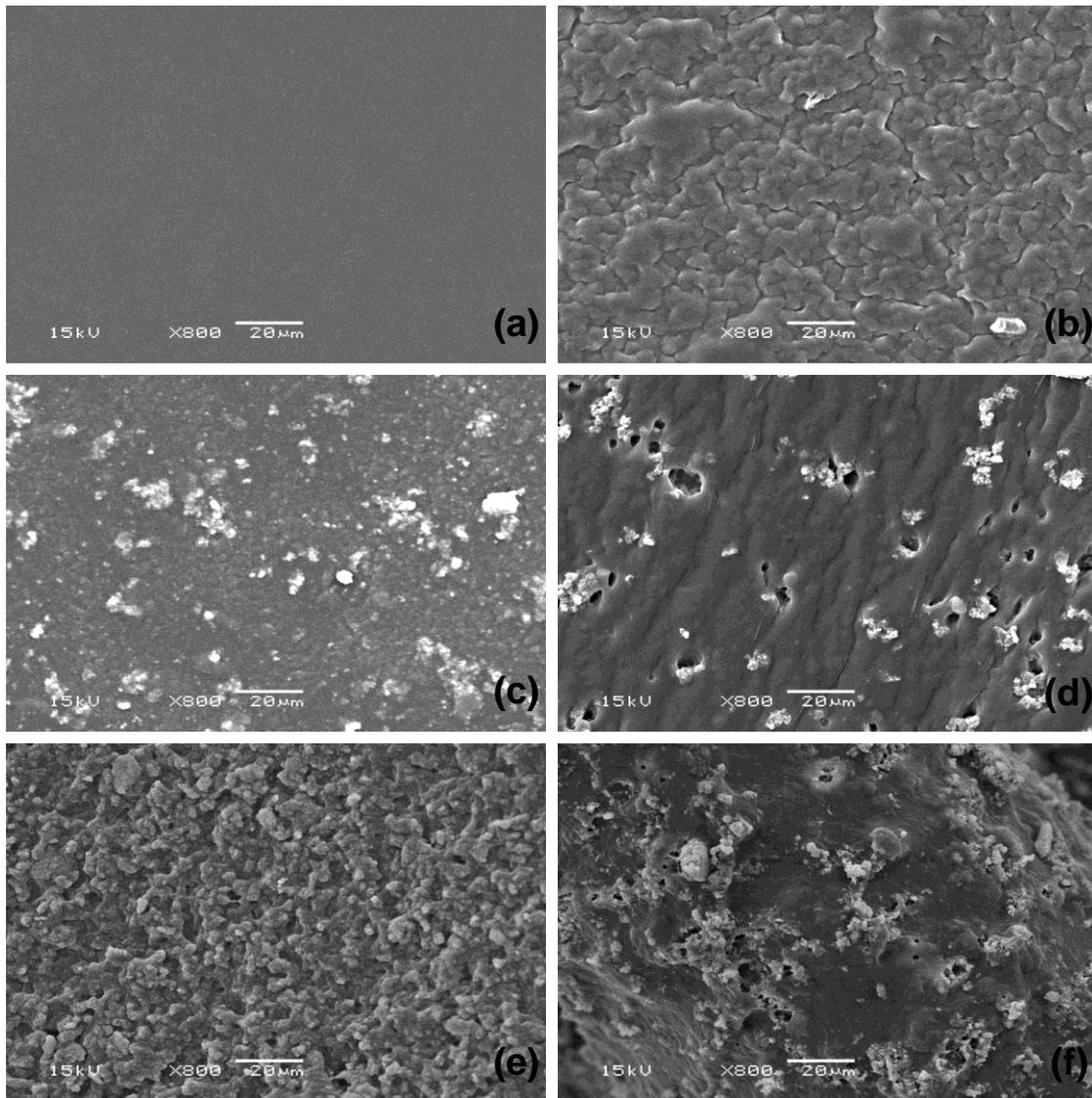


Figura 25 - Micrografias MEV dos hidrogéis: (a) VP, (b) VPAA, (c) VPHA, (d) VPAAHA, (e) VPHAHP e (f) VPAAHAHP

## 5.2 ETAPA 2: Liberação do fármaco e cinética de liberação

Os hidrogéis compósitos obtidos na etapa anterior foram avaliados quanto à adição e liberação do fármaco, bem como as cinéticas para análise de liberação através de modelos matemáticos.

## Liberação do fármaco

Os perfis de liberação dos hidrogéis compósitos em estudo foram obtidos através de coletas seriadas em intervalos de tempo pré-definidos. A figura 26 apresenta o gráfico do percentual liberado em relação ao tempo, bem como, os valores médios de liberação com os respectivos desvios-padrão, apresentados na tabela 7. Observa-se que os perfis obtidos apresentam perfil de liberação controlada do fármaco e este comportamento oferece vantagens sobre os métodos convencionais, tais como, a manutenção de níveis constantes de droga no organismo por um determinado período de tempo, aumentando o conforto do paciente e a eficácia do tratamento.

Pode ser observado que nas primeiras 8 horas o hidrogel VPHAHP apresentou liberação do fármaco mais elevada, aproximadamente 80% da massa total. Já o hidrogel contendo o ácido acrílico apresentou inicialmente uma liberação mais lenta e após 48 horas se aproximou da quantidade liberada pelo outro hidrogel. Isto pode ser explicado através dos três fatores (já descritos anteriormente): porosidade; formação do complexo inter-polímero (reticulação) e a interação do fármaco com esses polímeros. O hidrogel VPHA apresenta menor grau de reticulação e poros maiores facilitando assim a liberação da heparina, sendo que esta ocorre mais rapidamente nas primeiras horas por se encontrar mais próximo da superfície. Já para o hidrogel com ácido acrílico (VPAAHA) a presença das ligações inter-polímeros aumenta a reticulação das cadeias, diminui o tamanho dos poros dificultando o processo de liberação do fármaco. Vale ressaltar também que a interação da heparina com os grupos carboxílicos do ácido acrílico retarda a sua liberação<sup>(118,102)</sup> e que a adição de HA também contribui para a redução da absorção de água e do inchamento, como visto anteriormente na figura 24.

A quantidade de fármaco liberado nos dois sistemas de hidrogéis diminui com tempo, chegando a um valor constante em cerca de 50 horas. Esta rápida taxa de liberação da heparina pode ser vantajosa, visto que garantiria uma alta concentração de medicamento no início da implantação. Os hidrogéis funcionam como sistemas matriciais onde o fármaco pode ou não estar homogeneamente disperso na matriz polimérica e a sua liberação envolve processos físicos e químicos, incluindo a entrada de água na matriz (inchamento/relaxamento das cadeias), a dissolução do fármaco e a sua difusão através dos poros da matriz. Sendo assim, os perfis de liberação destes sistemas são

caracterizados por uma diminuição da taxa de liberação com o tempo, devido à maior distância que o fármaco deve percorrer no interior até a superfície da matriz.

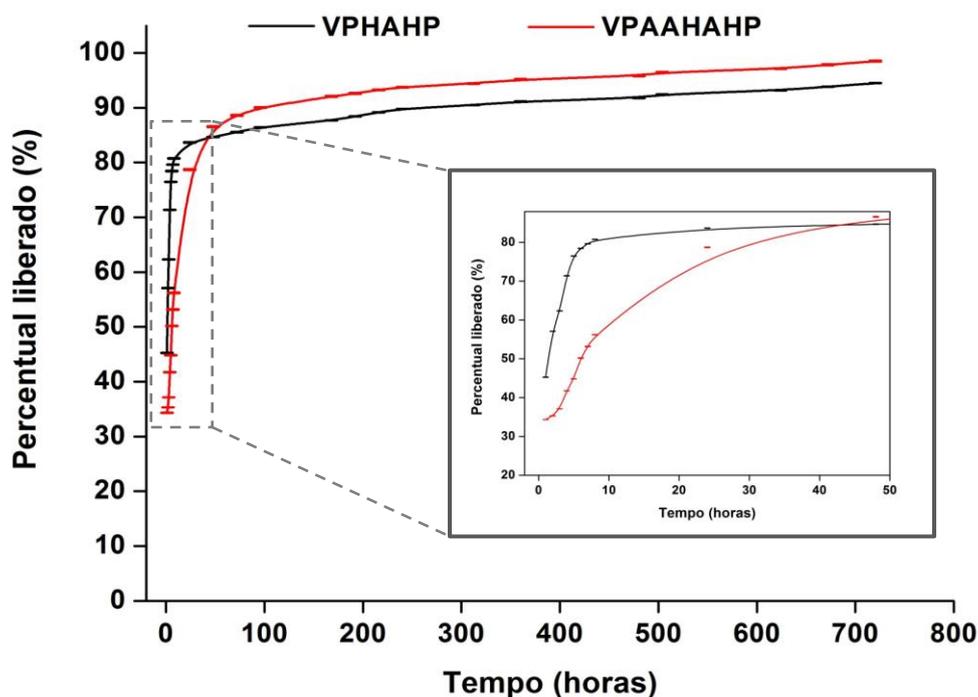


Figura 26 - Taxa de liberação da heparina sódica

Tabela 7 - Valores médios do percentual de liberação com os respectivos desvios-padrão

Tempo	VPHAHP (%)	VPAAHAHP (%)
0,5 hrs	28,50 ± 0,03	27,96 ± 0,03
1 hr	45,26 ± 0,03	34,33 ± 0,01
4 hrs	71,37 ± 0,03	41,73 ± 0,02
8 hrs	80,75 ± 0,04	56,21 ± 0,05
1 dia	83,68 ± 0,05	78,73 ± 0,08
15 dias	91,15 ± 0,03	95,16 ± 0,08
21 dias	92,46 ± 0,03	96,47 ± 0,07
30 dias	94,50 ± 0,02	98,50 ± 0,08

A partir dos perfis de dissolução obtidos, que relacionam porcentagem dissolvida versus tempo, determinaram-se parâmetros cinéticos, os quais possibilitaram uma análise comparativa com relação ao comportamento *in vitro* desses materiais. A avaliação da cinética permite conclusões a respeito do processo de dissolução de determinada formulação.

### Cinéticas para análise de liberação

A etapa da liberação da substância ativa a partir de sistemas de matrizes hidrofílicas resulta da interação complexa entre inchamento, dissolução, difusão e mecanismos de erosão. Esta complexidade deve-se ao fato das moléculas do hidrogel, quando em contato com a água adquirirem micro e macro estruturas em consequência do processo de transição do estado “seco” para o estado maleável, dependendo do tempo de exposição à água. Consequentemente, o tratamento matemático, abrangendo todos estes mecanismos, torna-se muito mais complexo.

Os dados obtidos nos perfis de liberação foram submetidos a tratamentos matemáticos com a finalidade de determinar sua cinética de liberação sendo, neste estudo, aplicados cinco modelos matemáticos: *Higuchi*; *Korsmeyer-Peppas*; *Ritger-Peppas*; *Peppas-Shalin* e *Linder-Lippold*. A Tabela 8 apresenta os ajustes dos modelos matemáticos descritos, segundo o coeficiente de correlação obtido ( $r$ ), através do qual se pode afirmar o modelo mais adequado para descrever a liberação da heparina sódica. Os modelos cinéticos que mais se ajustaram as formulações dos hidrogéis foram Peppas-Shalin para VPHAHP e Ritger-Peppas para VPAAHAHP.

Tabela 8 - Coeficiente de correlação ( $r$ ) dos modelos matemático-avaliadas avaliadas até as primeiras 8 horas

Modelos	Ritger Peppas	Peppas Shalin	Korsmeyer Peppas	Linder Lippold	Higuchi
<b>Compósito</b>	<b>r</b>				
<b>VPHAHP</b>	0,92674	<b>0,99509*</b>	0,97304	0,97878	0,58933
<b>VPAAHAHP</b>	<b>0,99261*</b>	0,96880	0,97074	0,96666	0,68968

O modelo Peppas-Shalin é utilizado numa tentativa de quantificar as contribuições relativas dos dois fenômenos responsáveis pela liberação do fármaco, difusão (transporte

Fickiano) e relaxamento das cadeias poliméricas (transporte Caso II). A tabela 9 apresenta os parâmetros cinéticos calculados para os sistemas envolvidos e pode ser observado que a contribuição do mecanismo de difusão Fickiana ( $K_1$ ) prevalece sobre a contribuição do mecanismo de relaxação das cadeias poliméricas ( $K_2$ ), portanto  $K_1 > K_2$ . Isto também se justifica através do valor do coeficiente de difusão obtido para o hidrogel VPHAHP,  $n = 0,54$ , confirmando então que o processo de difusão da heparina sódica nas primeiras 8h é do tipo Fickiana.

Já para o hidrogel VPAHAHP o modelo de Ritger-Peppas apresentou um melhor ajuste matemático. Neste caso, a cinética de liberação do fármaco foi mais lenta, resultando em uma sobreposição (somatória) de ambos os processos, tipo Fickiana e de transporte Caso II. Porém o valor do coeficiente de difusão obtido foi de 0,26 indicando a existência de outros fenômenos envolvidos como a presença de poros que resulta em valores de “n” inferiores a 0,5, devido a um processo de difusão parcial através da matriz polimérica inchada e através dos poros formados no biomaterial.

Tabela 9 - Ajustes das equações de Peppas-Shalin e Ritger-Peppas ao término das primeiras 8 horas

Compósito	VPHAHP			VPAHAHP		
	Peppas-Shalin			Ritger-Peppas		
Modelos	$K_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	n	$K_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	n
	$49,9 \pm 0,9$	$-7,6 \pm 0,5$	$0,54 \pm 0,03$	$27,9 \pm 0,9$	$3,5 \pm 0,2$	$0,26 \pm 0,03$

Segundo Lopes *et al* <sup>(148)</sup>, nos sistemas com liberação controlada, a velocidade de liberação do fármaco resulta da combinação da difusão com o transporte Caso II das moléculas de fármaco através das cadeias poliméricas. Nestes casos, a difusão obedece às leis de Fick, enquanto que o transporte Caso II reflete na influência do relaxamento do polímero no movimento das moléculas da matriz.

Após o estudo do perfil de liberação do fármaco e de sua cinética, pode ser definido que o hidrogel compósito VPHA foi o sistema mais adequado para a liberação da heparina sódica, pois além de apresentar o perfil de liberação controlada, se obteve uma rápida liberação do fármaco nas primeiras horas sendo um fator importante e decisivo evitando assim maiores complicações ao paciente pós-implante, bem como sua liberação de forma constante ao longo do período de 30 dias.

### 5.3 ETAPA 3: Avaliação *in vitro*

O hidrogel compósito (VPHA) foi avaliado quanto a sua hemocompatibilidade através do ensaio de hemólise.

#### Ensaio de hemólise

O contato do sangue com os biomateriais empregados nos dispositivos pode desencadear um aumento da resposta inflamatória sistêmica, já ativada pela condição hemodinâmica dos pacientes<sup>(84)</sup>, ou seja, os biomateriais podem causar hemólise, principalmente os stents por serem introduzidos diretamente nos vasos sanguíneos onde permanecem.

A figura 27 apresenta os gráficos da concentração da hemoglobina liberada ( $\mu\text{g/mL}$ ) em função do tempo para os hidrogéis e stents revestidos, com e sem heparina. A análise estatística foi realizada com ANOVA de duas vias com pós-teste de Bonferroni. Pode ser observado que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) comparando os controles (CTRL) com os grupos contendo os hidrogéis dentro de cada tempo analisado. Portanto a partir deste teste foi constatado que o biomaterial não causa hemólise (não interferiu na hemostasia fisiológica) estando de acordo para sua aplicação.

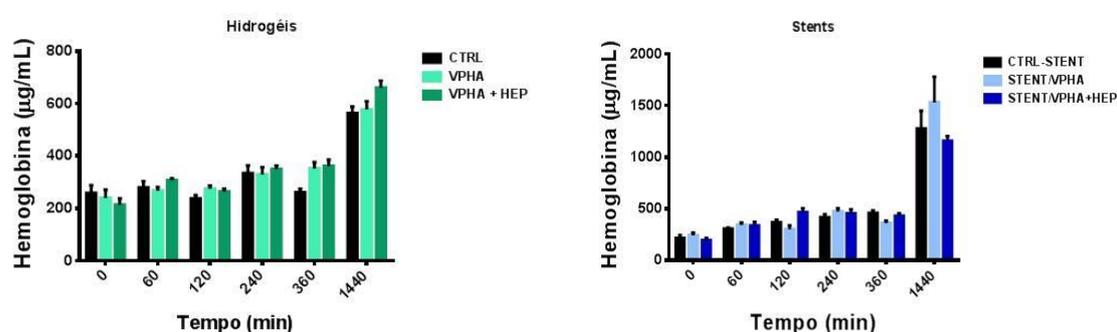


Figura 27 – Concentração da hemoglobina liberada em função do tempo: hidrogéis e stents (CTRL = poço sem hidrogel; CTRL-STENT = stent sem hidrogel)

#### 5.4 ETAPA 4: Revestimento dos stents metálicos

Primeiramente foi realizado o estudo da rugosidade dos substratos metálicos (placas de Cr-Co) a partir da análise por perfilometria e AFM, e, posteriormente, o hidrogel compósito (VPHA e VPHAHP), já aprovado no ensaio de hemólise, foi utilizado como revestimento dos stents metálicos (Cr-Co).

#### Análise da rugosidade

A tabela 10 apresenta os valores da medida  $R_a$  (rugosidade média) das placas, não eletropolidas e eletropolidas, através da análise por perfilometria (microrugosidade) e AFM (nanorugosidade). Podem ser verificados que os valores de  $R_a$  para a medida de microrugosidade são próximos (praticamente iguais). Já para a medida de nanorugosidade houve uma variação significativa dos valores de  $R_a$  antes e após o eletropolimento, sendo claramente visualizado nas imagens topográficas (figura 28 e 29). Portanto, o tratamento eletroquímico realizado foi eficaz e os valores encontrados estão próximos à rugosidade ( $R_a = 2\text{nm}$ ) de um stent comercial <sup>(149)</sup>.

Tabela 10 - Medida da micro e nanorugosidade das placas não eletropolidas e eletropolidas

Amostras	$R_a$ ( $\mu\text{m}$ )		$R_a$ (nm)	
	NE*	E*	NE*	E*
P1	0,04	0,05	7,17	0,54
P2	0,06	0,05	9,21	0,53
P3	0,05	0,05	4,75	1,29
P4	0,07	0,08	3,87	1,14

\*NE: não eletropolidas \*E: eletropolidas

A figura 28 mostra visualmente a diferença de rugosidade apresentada nas superfícies das placas de Cr-Co sem e com o polimento eletroquímico. Sem o

eletropolimento se observa marcas produzidas pela lixa. A medida que o eletropolimento vai se tornando efetivo, as marcas da lixa desaparecem na superfície, resultando em uma maior regularidade, confirmando os resultados obtidos pela tabela 10. O tratamento eletroquímico reduziu a rugosidade das amostras, sendo um indicativo de que foi efetivo, proporcionando um bom acabamento superficial.

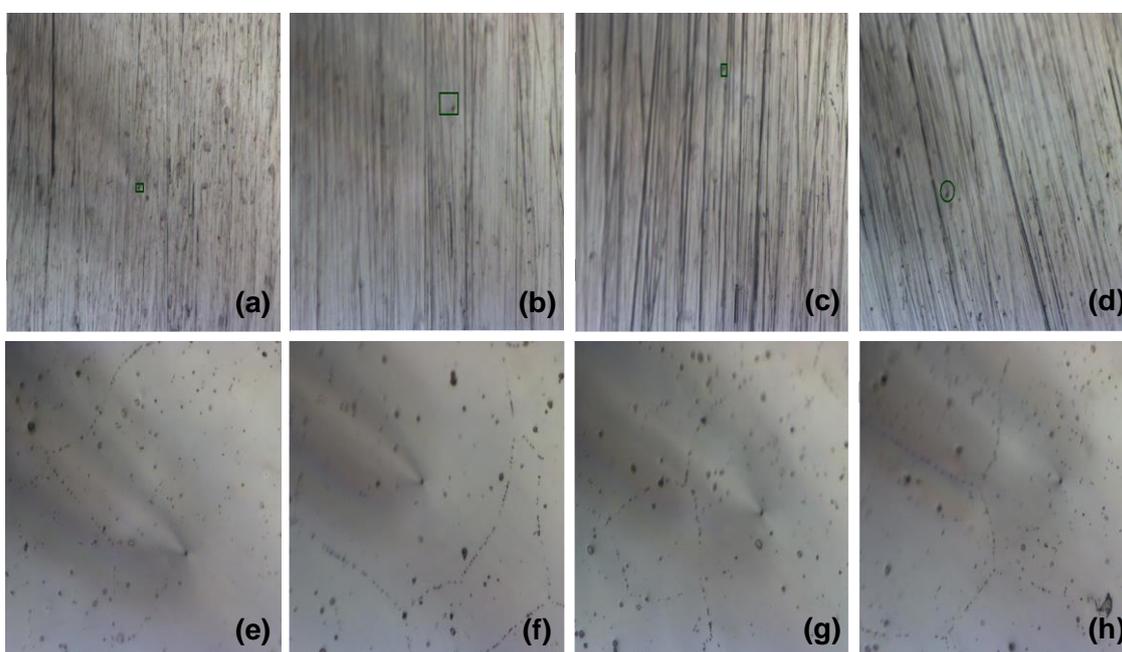


Figura 28 - Topografias das superfícies das placas de Cr-Co: antes (a, b, c, d) e após (e, f, g, h) o eletropolimento

A Figura 29 mostra a topografia em 3D das superfícies das placas de Cr-Co antes e após o eletropolimento, verificando o padrão de cores, pode ser observado uma maior regularidade nas superfícies submetidas ao eletropolimento, reforçando que o polimento eletroquímico, com os parâmetros utilizados, foi adequado e esta de acordo com o que se encontra na literatura.

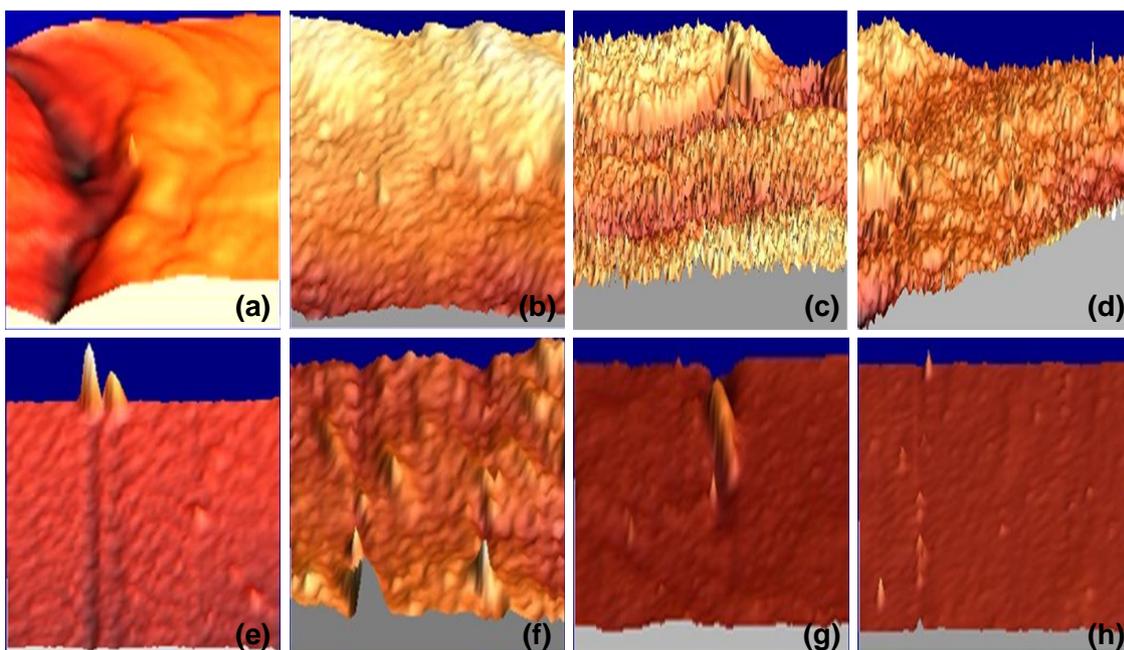


Figura 29 - Topografias em 3D das superfícies das placas de Cr-Co: antes (a, b, c, d) e após (e, f, g, h) o eletropolimento

Já a figura 30 apresenta as micrografias da superfície de um stent eletropolido e um stent comercial. Pode ser visualizado que o stent eletropolido apresenta uma quantidade significativa de precipitados claros. Já o stent comercial apresenta alguns defeitos (ranhuras) na estrutura metálica que podem ser decorrentes do processo de fabricação e/ou tratamento térmico não adequado.

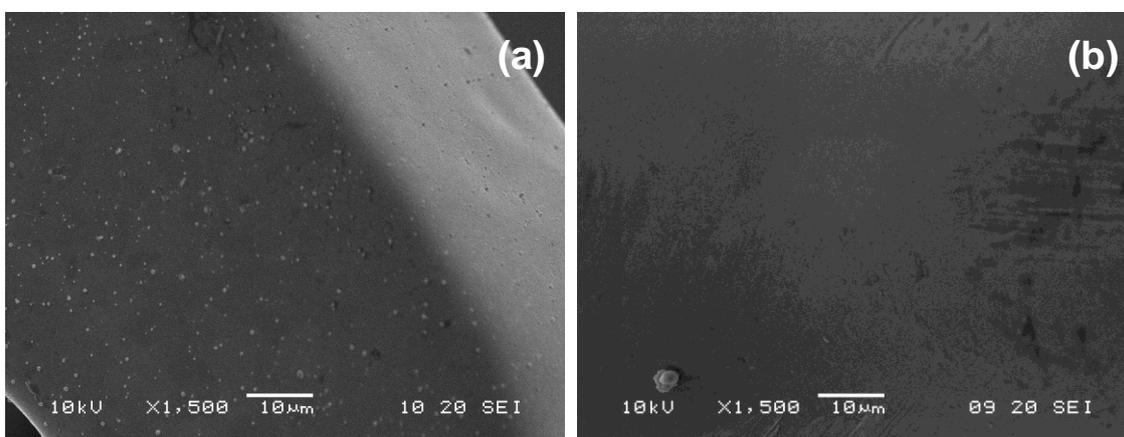


Figura 30 – Micrografias da superfície dos stents: (a) stent eletropolido (b) stent comercial

A figura 31 apresenta as micrografias das superfícies dos stents eletropolidos com e sem revestimento. Pode-se perceber que os hidrogéis compostos estão aderidos (grudados) na superfície do stent, indicando que a rugosidade superficial foi adequada e o tratamento eletroquímico foi efetivo.

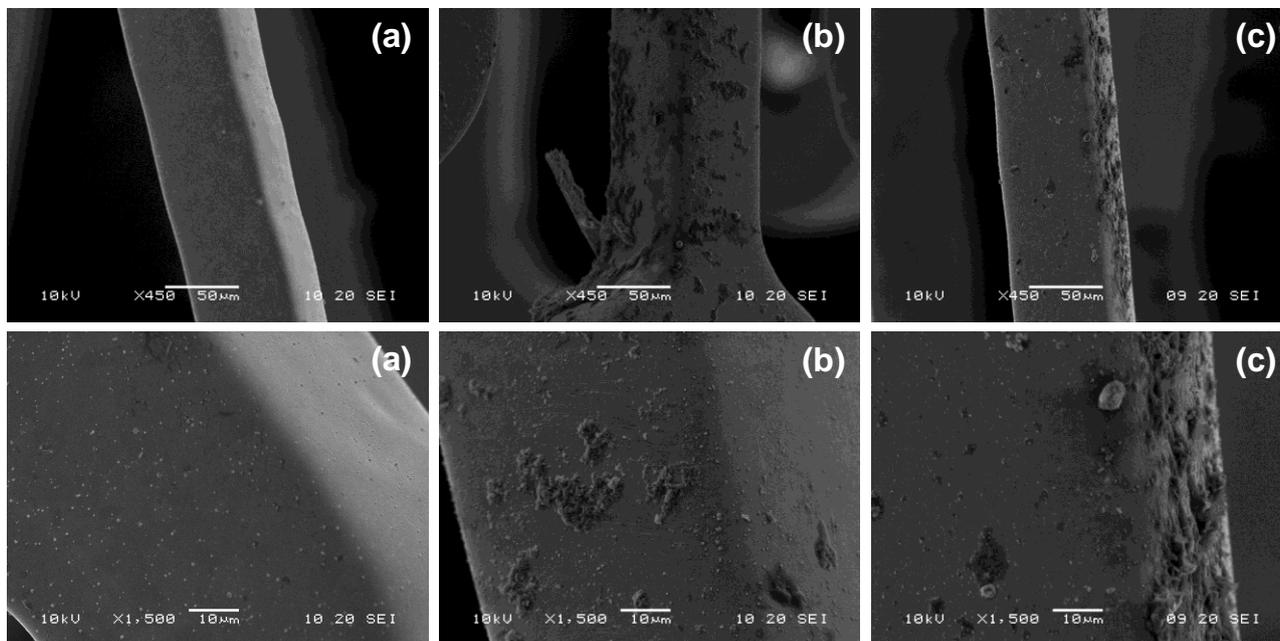


Figura 31 – Micrografias dos stents eletropolidos: (a) sem revestimento; (b) VPHA e (c) VPHAHP em diferentes aumentos

Esta última etapa referente ao revestimento dos stents metálicos ainda está na fase inicial devido aos desafios e a complexidade deste estudo. Porém percebe-se que os resultados encontrados foram satisfatórios.

## 6. CONCLUSÕES

A obtenção da hidroxiapatita através do método de síntese por via úmida mostrou ser um processo rápido e eficiente. A obtenção dos hidrogéis através da polimerização via radical livre por radiação UV, também mostrou ser um método eficiente. Através da caracterização dos hidrogéis foi possível conectar e relacionar os resultados obtidos. Portanto, pode-se concluir que os hidrogéis sem a presença do ácido acrílico, apresentam menor grau de reticulação, possuem poros maiores, incham mais, liberando o fármaco mais rapidamente. Já os hidrogéis com ácido acrílico, possuem poros menores, incham menos, portanto liberam mais lentamente o fármaco, devido a formação dos complexos inter-polímeros que aumentam o grau de reticulação.

No estudo de liberação do fármaco e de sua cinética, mostrou que o hidrogel compósito VPHA foi o sistema mais adequado para a liberação da heparina sódica, pois além de apresentar o perfil de liberação controlada, se obteve uma rápida liberação do fármaco nas primeiras horas sendo um fator importante e decisivo evitando assim maiores complicações ao paciente pós-implante, bem como sua liberação de forma constante ao longo do período de 30 dias. Os modelos cinéticos que mais se ajustaram as formulações dos hidrogéis foram Peppas-Shalin para VPHAHP e Ritger-Peppas para VPAAHHP.

O hidrogel compósito VPHA mostrou que não causa hemólise (não interferiu na hemostasia fisiológica) estando de acordo para sua aplicação.

A última etapa referente ao revestimento dos stents metálicos ainda está na fase inicial devido aos desafios e a complexidade deste estudo. Porém percebe-se que os resultados encontrados foram satisfatórios.

## 7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Obtenção de hidrogéis com polímeros condutores
- ✓ Estudar e avaliar outros parâmetros de tratamento eletroquímico
- ✓ Testar este sistema de liberação controlada para outros fármacos
- ✓ Estudo da avaliação *in vivo* dos stents farmacológicos

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>1</sup> RIBEIRO A.L., DUNCAN B.B., BRANT L.C., LOTUFO P.A., MILL J.G., BARRETO S.M. Cardiovascular Health in Brazil: trends and perspectives. *Circulation*. v 133 p 422-33, 2016.
- <sup>2</sup> Heart Disease & Stroke Statistics, American Heart Association, 2009.
- <sup>3</sup> KUMARI M., PHANI K., MADHULIKA B., JAYA R. A Study on Food Habits and Social Habits as Risk Factors among Patients Undergoing Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty (PTCA). *International Journal of Trend in Scientific Research and Development (IJTSRD)*, v 3, p 1423-1431, 2019.
- <sup>4</sup> YOUNG J. SOO H. Self-Expandable Stents in Vascular Stenosis of Moderate to Large-Sized Vessels in Congenital Heart Disease: Early and Intermediate-Term Results. *Korean Circ J.*, v 49, p 932-942, 2019.
- <sup>5</sup> ABREU B., NASCIMENTO G., RABELO W., MARINO M., MARINO M. Reestenose Clínica de Stent Coronariano: Seguimento após Tratamento com Análise de Desfechos Clínicos. *Arq. Bras. Cardiol.*, v 104, p 375-385, 2015.
- <sup>6</sup> JOS C., BERG D. The Biology of In-Stent Restenosis and the Rationale for Debulking. *Vascular Disease Management*, v 13, p 235-236, 2016.
- <sup>7</sup> CHANDRASEKHAR J., MARTIN K., MEHR R. Role of coronary drug-eluting stents in current clinical practice. *Clinical Pharmacist*, v 109, p 190-195, 2016.
- <sup>8</sup> HTAY T., LIU M. Drug-Eluting Stent: A Review and Update. *Vasc Health Risk Manag.*,v 1, p 1315-1323, 2015.
- <sup>9</sup> PICOLO R. Drug-eluting or bare-metal stents for percutaneous coronary intervention: a systematic review and individual patient data meta-analysis of randomised clinical trials. *The Lancet*, v 393, p 3003-3007, 2019.
- <sup>10</sup> SASTRY S. MORICE M. Are drug-eluting stents safe and effective in the long term?. *Arq. Bras. Cardiol.*, v 95, p 192-197, 2010.
- <sup>11</sup> GIULIO G., STEFANINI M., DAVID R., HOLMES J. Drug-Eluting Coronary-Artery Stents *N Engl J Med.*, v 368, p 254-265, 2013.
- <sup>12</sup> CHARAN Y., CASE B., FORRESTAL B., TORGUSON R., WEINTRAUB W., GARCIA-GARCIA H. WAKSMAN R. Drug-Coated Balloon for De Novo Coronary Artery Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, v 75, p 148-163, 2020.

- <sup>13</sup> SIMÕES M. M., Revestimentos de stents com filmes de PVA eluidores de S-Nitroglutaciona, Tese doutoral, 2006.
- <sup>14</sup> MURRAY, C. J. L. Global, regional and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. Europe PMC Funders Group, Author Manuscript, 2015.
- <sup>15</sup> PINHO R. A., ARAÚJO M. C., GHISI G. L. M., BENETTI M. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. *Arq. Bras. Cardiologia*, v 94 (4), p 594-555, 2010.
- <sup>16</sup> Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). [homepage na Internet]. Síntese de indicadores sociais 2002 [Citado 2015 junho 19]. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>
- <sup>17</sup> CACHADA R. P. Biomateriais e a sua aplicação na reparação e regeneração do tecido cardiovascular, Dissertação de Mestrado, 2016.
- <sup>18</sup> ZUKOWSKI C., RATI M. Reestenose coronária: mecanismos, diagnóstico e tratamento na prática contemporânea. *J Transcat Intervent.*, v 27 p-eA201904, 2019.
- <sup>19</sup> Dos Santos B., Bianco H. Atualizações em doença cardíaca isquêmica aguda e crônica. *Rev Soc Bras Clin Med.*, v 16 p 52-58, 2018.
- <sup>20</sup> GUTIERREZ, F. L. B. R. Difusão da angioplastia coronariana. Dissertação, RJ, 2010.
- <sup>21</sup> BENEDETTA T., ALESSIO M., GIORGIO I. B., CARLO D. M A Brief History of Coronary Artery Stents. *Revista Española de Cardiología*, v 71, p 312-319, 2018.
- <sup>22</sup> KLEINEDLER J. J., FOLEY J. D., ORCHARD E. A., DUGAS T. R. Novel nanocomposite stent coating releasing resveratrol and quercetin reduces neointimal hyperplasia and promotes re-endothelialization. *Journal of Controlled Release*, v 159, p 27-33, 2012.
- <sup>23</sup> LIVINGSTON M., TAN A. Coating Techniques and Release Kinetics of Drug-Eluting Stents. *J Med Device.*, v 10, p 78-89, 2019.
- <sup>24</sup> RIDKER P.M., EVERETT B.M., THUREN T., MACFADYEN J.G., CHANG W.H. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med.*, v 377 p 1119-1131, 2017.
- <sup>25</sup> GOMES F., TELO D. F., SOUZA H. P., NICOLAU J. C., HALPEM A., SERRANO JR. C. V. Obesidade e doença arterial coronariana: papel da inflamação vascular. *Arq. Bras. Cardiol.*, v 94 (2), p 273-279, 2010.

- <sup>26</sup> GAMA G. G. G., MUSSI F. C., MENDES A. S., GUIMARÃES A. C. (Des)controle de parâmetros clínicos e antropométricos em indivíduos com doença arterial coronária. *Revista Esc. Enferm. USP*, v 45 (3), p 624-631, 2011.
- <sup>27</sup> DOUGLAS P.S., HOFFMANN U., PATEL M.R., MARK D.B., AL-KHALIDI H.R. Outcomes of anatomical versus functional testing for coronary artery disease. *N Engl J Med.*, v 372 p 1291-300, 2015.
- <sup>28</sup> DE PINHOI R., COSTA DE ARAÚJO M., GHIS G., BENETTI G. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. *Arq. Bras. Cardiol.* v 94, p 35-40, 2010.
- <sup>29</sup> Disponível em [http: www.misodor.com](http://www.misodor.com)
- <sup>30</sup> SHAH R. Bioresorbable polymer drug-eluting stents. *The Lancet*, v 14, p 935-936, 2018.
- <sup>31</sup> Disponível em [http: www.heartnutrition.info/cardiovascular-disease-causes-consequence](http://www.heartnutrition.info/cardiovascular-disease-causes-consequence)
- <sup>32</sup> GOMES A., PISSUTTI R., BRAZ G., VICENTE B., ROCHA V., NOGUEIRA E. Angioplastia de tronco de coronária esquerda não protegido: relato de dois casos. *International Journal of Cardiovascular Sciences*, v 25, p 25-37, 2012.
- <sup>33</sup> MORAES, R. F.; MENEGHETTI, J. C.; BARROSO, A. A. Cintilografia de perfusão miocárdica sob baixa dose de dobutamina na identificação do miocárdio viável. *Radiol. Bras.*, v 43 (5), p 281-287, 2010.
- <sup>34</sup> O'NEILL L., SOWBHAGA V., OWENS P. Fracture, inflation and floatation embolisation of PTCA balloon. *BMJ Case Rep.*, v 9 p 227-233, 2015.
- <sup>35</sup> SUN Z., ALMUTAIRI A. M. D. Diagnostic accuracy of 64 multislice CT angiography in the assessment of coronary in-stent restenosis: a meta-analysis. *European Journal of Radiology*, v 73, p 266-273, 2010.
- <sup>36</sup> HAASE D., OTTO S., ROMEIKE B., FIGULLA H., POERNER T.C. Development and characterization of an ex vivo arterial long-term proliferation model for restenosis research. *ALTEX*, v 32 p 307-317, 2015.
- <sup>37</sup> PAPAFAKLIS M. I., CHATZIZISIS Y. S., NAKA K. K., GIANNOGLOU G. D., MICHALIS L. K. Drug-eluting stent restenosis: effect of drug type, release kinetics, hemodynamics and coating strategy. *Pharmacology and Therapeutics*, v 134, p 43-53, 2012.
- <sup>38</sup> ARMOSTRONG E. J., YEO K. K., JAVED U., MAHMUD E., PATEL M., SHUNK K. A., MACGREGOR J. S., LOW R. I., ROGERS J. H. Angiographic stent thrombosis at coronary bifurcations: short- and long-term prognosis. *Cardiovascular Interventions*, v 5, p 58-63, 2012.

- <sup>39</sup> RAGII P. Role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis and therapeutic interventions. *Journal atherosclerosis*, v 276, p 98-108, 2018.
- <sup>40</sup> SCHMIDT T., ABBOTT D. Coronary Stents: History, Design, and Construction. *J Clin Med.*, v 7, p 126-129, 2018.
- <sup>41</sup> AUNG S., LATT S., KYAW S., ROONGSRITONG C. An Interesting Case and Literature Review of a Coronary Stent Fracture in a Current Generation Platinum Chromium Everolimus-Eluting Stent. *Case Reports in Cardiology.*, v 14, p 299-312, 2018.
- <sup>42</sup> MOTOVSKA Z., KNOT J., WIDIMSKY P. Stent thrombosis – risk assessment and prevention. *Cardiovascular Therapeutics*, v 28, p 92-100, 2010.
- <sup>43</sup> CHASSOT E., IRIGARAY J. L., TERVER S., VANNEUVILLE G. Contamination by metallic elements released from joint prostheses. *Medical Engineering and Physics*, v 26, p 193-199, 2014.
- <sup>44</sup> MCKAVANAGH P., ZAWADOWSKI S., AHMED N., KUTRYK M. The evolution of coronary stents. *Journal Expert Review of Cardiovascular Therapy*, v 16, P 219 -228, 2018.
- <sup>45</sup> Tabraiz S., Ansarib S., Uroojc M., Aldobali W. A Review based on Biodegradable and Bioabsorbable Stents for Coronary Artery Disease. *Procedia Computer Science*, v 152, p 354-359, 2019.
- <sup>46</sup> HASEBE T., MURAKAMI K., NAGASHIMA S., IHARA A., OTAKE M., KASAI R., KASUVA S., KITAMURA N., KAMIJO A., TERADA H., HOTTA A., TAKAHSHI K., SUZUKI T. Design for improved adhesion of fluorine-incorporated hydrogenated amorphous carbon on metallic stent: three-layered structure with controlled surface free energy. *Diamond and Related Materials*, v 20, p 902-906, 2011.
- <sup>47</sup> GARCÍA A., PEÑA E., MARTÍNEZ M. A. Influence of geometrical parameters on radial force during self-expanding stent deployment. Application for a variable radial stiffness stent. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v 10, p 166-175, 2012.
- <sup>48</sup> RENGIER F., DELLES M., WEBER T. F., BÖCKLER D., LEY S., KAUCZOR H. U., KOBLIGK H. T. In vitro validation of low measurements in an aortic nitinol stent graft by velocity-encoded MRI. *European Journal of Radiology*, v 80, p 163-167, 2011.
- <sup>49</sup> ORMISTON J. A., WEBBER B., WEBSTER M. W. I. Stent longitudinal integrity. *Cardiovascular Interventions*, v 4, p 1310-1317, 2011.

- <sup>50</sup> CHIH-HUNG L., WEN-LIENG L., SHIH-HSIEN S., PAI-FENG H., YING-HWA C., WAN-LEONG C., SHING-JONG L., TSE-MIN L. Comparison of Bare-Metal Stent and Drug-Eluting Stent for the Treatment of Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention for Unprotected Left Main Coronary Artery Disease – Long-Term Result from a Single Center Experience. *Acta Cardiol Sin.*, v 31 p 381–389, 2015.
- <sup>51</sup> IQBAL .J, GUNN J., SERRUYS P. Coronary stents: historical development, current status and future directions. *British Medical Bulletin*, v 106, p 193–211, 2013.
- <sup>52</sup> VISCONTI G., FOCACCIO A., TAVANO D., AIROLDI F., BRIGUORI C. The CID Chrono™ cobalt-chromium alloy carbofilm-coated coronary stent system. *International Journal of Cardiology*, v 149, p 199-204, 2011.
- <sup>53</sup> WATSON T., WEBSTER M., ORMISTON J., RUYGROK P., STEWAR J. Long and short of optimal stent design. *Open Heart*, v 4 p- e000680, 2017.
- <sup>54</sup> Disponível em <https://www.techexplorist.com/study-unveiled-polymer-stents-failed/12132/>
- <sup>55</sup> WIESENT L., SCHULTHEIß U., SCHMID C., SCHRATZENSTALLER T., NONN A. Experimentally validated simulation of coronary stents considering different dogboning ratios and asymmetric stent positioning. *Plos one*, v 7, p 1-25, 2019.
- <sup>56</sup> Bates E. Balancing the Evidence Base on Coronary Stents. *N Engl J Med*, v 375, p 1286-1288, 2016.
- <sup>57</sup> ZHANG Y., CHAN H. F., LEONG K. W. Advanced materials and processing for drug delivery: the past and the future. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v 65, p 104-120, 2013.
- <sup>58</sup> ORMISTON J. A., SERRUYS P. W. S. Bioabsorbable coronary stents. *Cir. Cardiovasc. Intervent*, v 2, p 255-260, 2009.
- <sup>59</sup> HUANG Y., VENKATRAMAN S. S., BOEY F., LAHTI M., UMASHANKAR R., MOHANTY M., ARUMUGAM S., KHANOLKAR L., VAISHNAV S. *In vitro* e *in vivo* performance of a dual drug-eluting stent (DDES). *Biomaterials*, v 31, p 4382-4391, 2010.
- <sup>60</sup> GALLINO E., MASSEY S., TATOULIAN M., MANTOVANI D. Plasma polymerized allylamine films deposited on 316L stainless for cardiovascular stent coatings. *Surface and Coatings Technology*, v 205, p 2461-2468, 2010.
- <sup>61</sup> BAKHSHI R., DARBYSHIRE A., EVANS E., YOU Z., LU J., SEIFALIAN A. M. Polymeric coating of surface modified nitinol stent with POSS-nanocomposite polymer. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v 86, p 93-105, 2011.

- <sup>62</sup> ARMOSTRONG E. J., FELDMAN D. N., WANG T. Y., KALTENBACH L. A., YEO K. K., WONG C., SPERTUS J., SHAW R. E., MINUTELLO R. M., MOUSSA I., HO K. K. L., ROGERS J. H., SHUNK K. A. Clinical presentation, management, and outcomes of angiographically documented early, late and very late stent thrombosis. *Cardiovascular Interventions*, v 5, p 132-139, 2012.
- <sup>63</sup> BARAKAT A. I. Optimization of Drug Delivery by Drug-Eluting Stents. *Plos one*, v 13, p 65-74, 2015.
- <sup>64</sup> BOZSAK F., CHOMAZ J.M., BARAKAT A. Modeling the transport of drugs eluted from stents: physical phenomena driving drug distribution in the arterial wall. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, v 13, p 327–347, 2014.
- <sup>65</sup> LIETCHY W., KRYSCIO D., SLAUGHTER B. Polymers for Drug Delivery Systems. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, v 1, p 149-73, 2015.
- <sup>66</sup> Stents farmacológicos e stents metálicos no tratamento da doença arterial coronariana. *Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde*, ano VI nº8, 2009.
- <sup>67</sup> Produtos para Saúde - Stent Farmacológico. CONITEC, 2015.
- <sup>68</sup> Disponível em [http: www.revistapesquisa.fapesp.br/2012/02/11/stent-nacional-com-farmaco](http://www.revistapesquisa.fapesp.br/2012/02/11/stent-nacional-com-farmaco)
- <sup>69</sup> TAVARES S., SOUSA A. G. M. R., COSTA R. A., MOREIRA A., JR COSTA J. R., MALDONADO G., CANO M., ROMANO E., EGITO E. T., FERES F., PAVANELLO R., MAGNONI D., JARDIM C., ABIZAID A., SOUSA J. E. Impacto de stents farmacológicos em pacientes com doença arterial coronária estável submetidos a intervenção coronária percutânea na prática diária do mundo real. *Revista Bras. Cardiol. Invasiva.*, v 18, p 392-399, 2010.
- <sup>70</sup> OLIVEIRA S. S. M., MARCHETTI J. M. Determinação de heparina fracionada em preparações farmacêuticas utilizando turbidimetria. *Química Nova*, v 34, p 1063-1067, 2011.
- <sup>71</sup> ALQUWAIZANI M., BUCKLEY L., ADAMS C., FANIKOS J. Anticoagulants: A Review of the Pharmacology, Dosing, and Complications. *Curr Emerg Hosp Med Rep.*, v 1, p 83–97, 2013.
- <sup>72</sup> KAKKAR A. K. Low- and ultra-low-molecular-weight heparins. *Best Practice and Research Clinical Haematology*, v 17, p 77-87, 2014.
- <sup>73</sup> FRANCHINI M., LIUMBRUNO G., BONFANTI C., LIPPI G. The evolution of anticoagulant therapy. *Blood Transfus.* v 14, p 175–184, 2016.

- <sup>74</sup> KUMARI A. Nanoencapsulation and characterization of *Albizia chinensis* isolated antioxidant quercitrin on PLA nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v 82, p 224–232, 2011
- <sup>75</sup> Disponível em <http://es.wikipedia.org/wiki/Heparina>
- <sup>76</sup> PENDLETON R. C., RODGERS G. M., HULL R. D. Established Venous thromboembolism Therapies: Heparin, Low Molecular Weight Heparins, and Vitamin K Antagonists, with a Discussion of Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Clin Chest Med*, v 31, p 691-706, 2010.
- <sup>77</sup> SAKR Y., HAETSCHER F. Heparin-induced thrombocytopenia type II in a surgical intensive care unit. *Journal of Critical Care*, v 27, p 232-241, 2012.
- <sup>78</sup> SCHLÜTER A., LAMPRECHT A. Current developments for the oral delivery of heparin. *Curr Pharm Biotechnol.*, v 15 p 640-649, 2014.
- <sup>79</sup> COPES F., CHEVALLIER P., LOY C., PEZZOLI D., BOCCAFOSCHI F., MANTOVANI D. Heparin-Modified Collagen Gels for Controlled Release of Pleiotrophin: Potential for Vascular Applications. *Front Bioeng Biotechnol.*, v 9, p 74-19, 2019.
- <sup>80</sup> EZIHE-EJIOFOR J.A., HUTCHINSON N. Anticlotting mechanisms 1: physiology and pathology. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*, v 13, p 87–92, 2013.
- <sup>81</sup> CHAPINA J.C., HAJJAR K.A. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev.*, v 29, p 17–24, 2015.
- <sup>82</sup> SMITH S.A., TRAVERS R.J., MORRISSEY J.H. How it all starts: initiation of the clotting cascade. *Crit Rev Biochem Mol Biol.*, v 50, p 326–336, 2015.
- <sup>83</sup> FERREIRA C. N., SOUZA, M. O., DUSSE L. M. S., CARVALHO M. G. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v 32, p 416-421, 2010.
- <sup>84</sup> JUNIOR F. U. V., ANTUNES N., COSTA E. T. Comparação entre aspiradores de sangue combinados com tubos de silicone usados em circulação extracorpórea. *Revista Ciência e Tecnologia*, v 15, p 69-74, 2012.
- <sup>85</sup> ALMEIDA B. F. M., ZUCATTO A. S., VIEIRA R., SOEIRO C. S., VIOL M. A., BOMFIM S. R. M., CIARLINI P. C. Efeito da hemólise sobre o perfil bioquímico sérico canino, bovino e equino. *Revista Medicina Veterinária*, v 5, p 12-17, 2011.
- <sup>86</sup> BRODSKY R.A. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*, v 124, p 2804 -2811, 2014.

- <sup>87</sup> VIEIRA F., ANTUNES N., VIEIRA R. W., ÁLVARES L. M. P., COSTA E. T. Hemólise na circulação extracorpórea: correlação com o tempo e procedimentos realizados. *Rev. Bras. Cir. Cardiovascular*, v 27, p 535-541, 2012.
- <sup>88</sup> YUN Y., LEE B.K., PARK K. Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation. *J Control Release.*, v 219, p 2-7, 2015.
- <sup>89</sup> YUN Y.H., LEE B., PARK K. Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation. *J Control Release*, v 219, p 2-7, 2015.
- <sup>90</sup> BIZERRA A., SILVA V. Sistemas de liberação controlada: mecanismos e aplicações. *Revista Saúde e Meio Ambiente*, v 3, p 1-12, 2016.
- <sup>91</sup> MARAFON M., LOPES G. L. N., OLIVEIRA V. M. V., SOARES L. M., CARVALHO A. L. M., GUIMARÃES S. S. Caracterização físico-química e biofarmacotécnica de pomadas orabase de triancinolona. *Boletim Informativo Geum*, v 7, p 32-38, 2016.
- <sup>92</sup> ZARGAR A., HAFSHEJANI D., ESKANDARINIA A. A Review of Controlled Drug Delivery Systems Based on Cells and Cell Membranes. *Journal of Medical Signals & Sensors*, v 29, p 181-188, 2019.
- <sup>93</sup> DEEPIKA B., SOBANA S., NAZNEEN N. Matrix drug delivery system: a review. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, v 5, p 150 – 154, 2018.
- <sup>94</sup> RIBEIRO A. C., ESTESO M. A. Transport Properties for Pharmaceutical Controlled-Release Systems: A Brief Review of the Importance of Their Study in Biological Systems. *Biomolecules*, v 8, p 178 – 184, 2018.
- <sup>95</sup> JIANYU L., MOONEY D. Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nat Rev Mater.*, v 1, p 16071-16078, 2016.
- <sup>96</sup> CAMPOS F., CASSIMIRO D., CRESP M., ALMEIDA A., GREMIÃO M. Preparation and characterisation of Dextran-70 hydrogel for controlled release of praziquantel. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v 49, p 21-91, 2013.
- <sup>97</sup> DELIGKARIS K., TADELE T. S., OLTHUIS, W., BERG A. V. D. Hydrogel-based devices for biomedical applications. *Sensors and Actuators B*, v 147, p 765-774, 2010.
- <sup>98</sup> COSTA, P. J. C. Challenges to improve the biopharmaceutical properties of poorly water-soluble drugs and the application of the solid dispersion technology. *Matéria (Rio J.)*, v 23, p 141-153, 2018.

- <sup>99</sup> Owonubi S., Aderibigbe A., Mukwevho E., Sadiku E.R, Ray S. S. Characterization and in vitro release kinetics of antimalarials from whey protein-based hydrogel biocomposites. *International Journal of Industrial Chemistry*, v 9, p 39-52, 2018.
- <sup>100</sup> BRUSCHI M. L. Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems. *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, p 63-86, 2016.
- <sup>101</sup> KORSMEYER R. W., GURNY R., DOELKER E., BURI P., PEPPAS N. A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, v 15, p 25-35, 1983.
- <sup>102</sup> SOHAIL K., KHAN I. U., SHAHZAD, Y., HUSSAIN T. RANJHA N. M. pH-sensitive polyvinylpyrrolidone-acrylic acid hydrogels: impact of material parameters on swelling and drug release. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v 50, p 173-184, 2014.
- <sup>103</sup> CIRILLO G., SPATARO T., CURCIO M., SPIZZIRRI U. G., NICOLETTA F. P., PICCI N., IEMMA F. Tunable thermo-responsive hydrogels: synthesis, structural analysis and drug release studies. *Materials Science and Engineering C*, v 48, p 499-510, 2015.
- <sup>104</sup> RITGER P. L., PEPPAS N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, v 5, p 37-42, 1987.
- <sup>105</sup> PEPPAS N. A., SAHLIN J. J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *International Journal of Pharmaceutics*, v 57, p 169-172, 1989.
- <sup>106</sup> Wójcik-Pastuszka D., Krzak J., Macikowski B., Berkowski D., Osiński D., Musiał W. Evaluation of the Release Kinetics of a Pharmacologically Active Substance from Model Intra-Articular Implants Replacing the Cruciate Ligaments of the Knee. *Materials (Basel)*, v 12, p 1202-1212, 2019.
- <sup>107</sup> LINDNER, W.; LIPPOLD, B. Drug release from hydrocolloid embedding with high or low susceptibility to hydrodynamic stress. *Revista Pharmaceutical*, v 12, p 1781-1785, 1995.
- <sup>108</sup> Narayanaswamy R., Torchilin V. Hydrogels and Their Applications in Targeted Drug Delivery. *Molecules*, v 24, p 603- 611, 2019.
- <sup>109</sup> GARG A. Hydrogels: effectiveness extension for drug delivery and biomedical application. *Asian Journal of Biomaterial Research*, v 2, p 142-151, 2016.
- <sup>110</sup> SAMCHENKO, Y.; ULBERG, Z.; KOROTYCH, O. Multipurpose smart hydrogel systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, v 168, p 247-262, 2011.

- <sup>111</sup> CHAI Q., JIAO Y., YUX Y. Hydrogels for Biomedical Applications: Their Characteristics and the Mechanisms behind Them. *Gels*, v 6, p 3-12, 2017.
- <sup>112</sup> AHMADI F., OVEISI A., MOHAMMADI S., AMOOZGAR Z. Chitosan based hydrogels: characteristics and pharmaceutical applications. *Res Pharm Sci.*, v 10, p 1–16, 2015.
- <sup>113</sup> OKUDAN A., ALTAY A. Investigation of the Effects of Different Hydrophilic and Hydrophobic Comonomers on the Volume Phase Transition Temperatures and Thermal Properties of N-Isopropylacrylamide-Based Hydrogels. *International Journal of Polymer Science*, v 2, p 120-130, 2019.
- <sup>114</sup> LUI L. S., KOST J., YAN F., SPIRO R. C. Hydrogels from biopolymer hybrid for biomedical, food and functional food applications. *Polymers*, v 4, p 997-1011, 2012.
- <sup>115</sup> HOU R., ZHANG G., DU G., ZHAN D., CONG Y., CHENG Y. FU J. Magnetic nanohydroxyapatite/PVA composite hydrogels for promoted osteoblast adhesion and proliferation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v 103, p 318-325, 2013.
- <sup>116</sup> Sohail K., Khan U, Shahzad Y., Hussain T., Ranjha N. pH-sensitive polyvinylpyrrolidone-acrylic acid hydrogels: Impact of material parameters on swelling and drug release. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v 50, p 174-184, 2014.
- <sup>117</sup> HUSSAIN A., KHALID S.H, QADIR M.I., MASSUD A., ALI M., KHAN I.U., SALEEM M., IQBAL M., ASGHAR S., GUL H. Water uptake and drug release behaviour of methyl methacrylate-co-itaconic acid [P(MMA/IA)] hydrogels cross-linked with methylene bis-acrylamide. *J. Drug Del. Sci. Tech.*, v 21, p.249-255, 2011.
- <sup>118</sup> EL-REHIM, H.A.; HEGAZY, E.A.; KHALIL, F.H.; HAMED, N.A. Radiation preparation of drug carriers based polyacrylic acid (PAAc) using poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) as a template polymer. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, v 254, p 105-112, 2011.
- <sup>119</sup> RAVICHANDRAN, P.; SHANTHA, K.L.; RAO, P. Preparation, swelling characteristics and evaluation of hydrogels for stomach specific drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v 154, p 89-94, 1997.
- <sup>120</sup> Villanova J, Oréfice R. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v 20, p 51-64, 2010.
- <sup>121</sup> BROMBERG L., TEMCHENKO M., ALAKHOV V., HATTON T. A. Bioadhesive properties and rheology of polyether-modified poly (acrylic acid) hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics*, v 282, p 45-60, 2004.

- <sup>122</sup> VILLANOVA J. C. O., ORÉFICE R. L. Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v 20, p 51-64, 2010.
- <sup>123</sup> Cassinol P., Rosseti L., Ayala O., Martines M. Potencial of different hydroxyapatites as biomaterials in the bone remodeling. *Acta Cir. Bras.*, v 33, p 29-38, 2018.
- <sup>124</sup> SHOJAI M. S., KHORASANI M. T., KHOSHDARGI E. D., JAMSHIDI A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomaterialia*, v 9, p 7591-7621, 2013.
- <sup>125</sup> KUTIKOV A. B., SONG J. An amphiphilic degradable polymer/hydroxyapatite composite with enhanced handling characteristics promotes osteogenic gene expression in bone marrow stromal cells. *Acta Biomaterialia*, v 9, p 8354-8364, 2013.
- <sup>126</sup> BRUM I., CARVALHO J, DA SILVA PIRES J, ALENCAR M.A., DOS SANTOS L., ELIAS C.N. Nanosized hydroxyapatite and  $\beta$ -tricalcium phosphate composite: Physico-chemical, cytotoxicity, morphological properties and in vivo trial. *Scientific Reports*, v 9, p 19 -28, 2019.
- <sup>127</sup> BRITO N. S., LIMA T., LIMA A., NUNES R., VALÉRIO M. Processo de síntese de cristais de hidroxiapatita dopada com  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  em diferentes concentrações. *Scientia Plena*, v 7, p 1-7, 2011.
- <sup>128</sup> SAVA B., TARDEI C. Hydroxyapatite nanopowders obtained by sol-gel method, synthesis and properties. *Optoelectronics and Advanced Materials-Rapid Communications*, v 9, p 1415-1424, 2015.
- <sup>129</sup> LANDI E., TAMPIERI A., CELOTTI G., VICHI L., SANDRI M. Influence of synthesis and sintering parameters on the characteristics of carbonate apatite. *Biomaterials*, v 25, p 1763-1770, 2004.
- <sup>130</sup> LORANDI N. P., CIOFFI M. O. H., ORNAGHI H. J. Análise dinâmico-mecânica de materiais compósitos poliméricos. *Scientia Cum Industria*, v 4, p 48-60, 2016.
- <sup>131</sup> VOLKMER T. M., SANTOS L. A. Influencia do tempo de indução nas propriedades de hidroxiapatita porosa obtida por gelcasting de espumas. *Cerâmicas*, v 53, p 429-435, 2007.
- <sup>133</sup> RIGO E. C. S., GEHRKE S. A., CARBONAR M. Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação. *Revista Dental Press Periodontia Implantol.*, v 1 (3), p 39-50, 2007.
- <sup>134</sup> SANTOS M. L., FLORENTINO A. O., SAEKI M. J., APARECIDA A. H., LIA FOOK M. V., GUASTALDI A. C. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. *Eclética Química*, v 30, p 29-35, 2005.

- <sup>135</sup> GATICA N., SOTO L., MORAGA C., LORETO V. Blends of poly(n-vinyl-2-pyrrolidone) and dihydric phenols: thermal and infrared spectroscopic studies. Part IV. *J. Chil. Chem. Soc.*, v 58, p 703-710, 2013.
- <sup>136</sup> Loría-Bastarrachea M., Herrera-Kao W. A TG/FTIR study on the thermal degradation of poly(vinyl pyrrolidone). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v 104, p 484-489, 2011.
- <sup>137</sup> JIN S., LIU M., ZHANG F., CHEN S., NIU A. Synthesis and characterization of pH-sensitivity semi-IPN hydrogel based on hydrogen bond between poly(N-vinylpyrrolidone) and poly(acrylic acid). *Polymer*, v 47, p 1526-1532, 2006.
- <sup>138</sup> JOVANOVIC Z., RADOSAVLJEVIC A., SILJGOVIC M., BIBIC N., STANKOVIC V. M., POPOVIC Z. K. Structural and optical characteristics silver/poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) nanosystems synthesized by  $\gamma$ -irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, v 81, p 1720-1728, 2012.
- <sup>139</sup> BAJPAI S. K., DUBEY S. In vitro dissolution studies for release of vitamin B<sub>12</sub> from poly(N-vinyl-2-pyrrolidone-co-acrylic acid) hydrogels. *Reactive & Functional Polymers*, v 62, p 93-104, 2005.
- <sup>140</sup> JANKAEW R., RODKATE N., LAMLERTTHON S., RUTNAKORNPITUK B., WICHAJ U., ROSS G., RUTNAKORNPITUK M. "Smart" carboxymethylchitosan hydrogels crosslinked with poly(N-isopropylacrylamide) and poly(acrylic acid) for controlled drug release. *Polymer Testing*, v 42, p 26-36, 2015.
- <sup>141</sup> SEMAN M. N., KHAYET M., HILAL N. Comparison of two different UV-grafted nanofiltration membranes prepared for reduction of humic acid fouling using acrylic acid and N-vinylpyrrolidone. *Desalination*, v 287, p 19-29, 2012.
- <sup>142</sup> COELHO T. C. Síntese e caracterização de heparina de baixa massa molar. Trabalho de conclusão de curso, 2004.
- <sup>143</sup> ORTEGA M. M. C., FIGUEROA A. G. M., FÉLIX D. E. R., MUNIVE G.T., FRANCO P. J. H. Amoxicillin embedded in cellulose acetate-poly (vinyl pyrrolidone) fibers prepared by coaxial electrospinning: preparation and characterization. *Materials Letters*, v 76, p 250-254, 2012.
- <sup>144</sup> FERRO L., SCIALDONE O., GALIA A. Preparation of pH sensitive poly(vinylidene fluoride) porous membranes by grafting of acrylic acid assisted by supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*, v 66, p 241-250, 2012.
- <sup>145</sup> LUNELLI C. E. Síntese e caracterização de formas encapsuladas de heparina e derivados em poli (ácido láctico). Dissertação, 2013.

<sup>146</sup> JIN S., LIU M., CHEN S., CHEN Y. Complexation between poly (acrylic acid) and poly (vinylpyrrolidone): influence of the molecular weight of poly (acrylic acid) and small molecule salt on the complexation. *European Polymer Journal*, v 41, p 2406-2415, 2005.

<sup>147</sup> ABU SEMAN M. N., KHAYET M., HILAL N. Comparison of two different UV-grafted nanofiltration membranes prepared for reduction of humic acid fouling using acrylic acid and N-vinylpyrrolidone. *Desalination*, v 287, p 19-29, 2012.

<sup>148</sup> LOPES C. M., LOBO J. M. S., COSTA P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v 41, p 143-154, 2005.

<sup>149</sup> COSTELLA R. S. Avaliação e tratamento de superfícies de stents da superliga Co-Cr ASTM F90. Trabalho de conclusão de curso, 2010.