

Preparação e Caracterização de Hidrogéis para Aplicações Biomédicas

Tese Submetida à Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade de Coimbra para obtenção do grau de Doutor em
Engenharia Química, especialidade Processos Químicos



José Filipe da Silva Lapas Almeida

Universidade de Coimbra
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Departamento de Engenharia Química

2010

Com o apoio de:

FCT

Fundação para a Ciência e a Tecnologia
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR

Agradecimentos

Ao longo destes anos de trabalho, muitas foram as ajudas, os apoios ou simplesmente os sorrisos que me permitiram completar mais uma etapa da minha vida, quer académica quer profissional. A todos desde já o meu sincero obrigado por tudo.

À Professora Doutora Maria Helena Gil, por me ter aceite, no dia 11 de Setembro de 2001, tão tristemente famoso por outros motivos, na primeira aula de Materiais Poliméricos I, à qual nem estava inscrito e me ter iniciado nesta aventura que é fazer investigação dando-me sempre e incondicionalmente o seu apoio, mesmo nas situações mais complicadas. Por ter sido, mais que uma orientadora uma amiga.

Ao Professor Doutor António Lopes, por me ter acolhido de braços abertos no seu grupo de investigação como um aluno de longa data, me ter dado todo o apoio e energia para terminar esta tarefa e me ter permitido tornar seu colega de trabalho.

Ao Doutor Armando Alcobia do Hospital Garcia de Orta, pelo seu apoio ao longo destes anos em Lisboa, e pelas suas ideias que tanto prestigiam este trabalho quer em fármacos a utilizar, quer nas possíveis aplicações dos mesmos.

À Doutora Helena Matias do ITQB, pelos seus ensinamentos no manuseamento e tratamento de dados do aparelho de RMN.

À Doutora Helena Casimiro do ITN, por me ter dado todo o apoio e ajuda na realização dos ensaios de irradiação γ e na interpretação dos resultados dos mesmos.

À Doutora Paula Calvino, pela ajuda na realização dos ensaios de fotopolimerização e interpretação dos resultados.

À Doutora Maria Leonor Ferreira pela paciência e preocupação e ao mesmo tempo alegria em ler este trabalho e corrigir o seu Português, mesmo durante todo o seu trabalho na Assembleia da República.

A todos os meus colegas de laboratório, quer de Coimbra, quer de Lisboa, pelo apoio e ajuda dispensados para a realização do trabalho, quer nas diversas técnicas de caracterização, quer pela companhia nos momentos mais difíceis.

Aos meus colegas de Enfermagem da Escola Calouste Gulbenkian de Lisboa, pela compreensão nas minhas ausências da escola e da realização de trabalhos devido aos compromissos profissionais.

Aos meus colegas de trabalho do Mathnasium, em particular à Catarina e ao Pedro, por sempre estarem prontos a me substituir dando-me descanso, apoio e muitos momentos divertidos ao longo destes anos.

Ao Énio por todo o apoio na escrita da parte médica da tese e, acima de tudo por estar sempre bem-disposto e alegre, transmitindo-me sempre o seu apoio e encorajamento ao longo destes anos mesmo quando a minha disposição não era das melhores.

À Luciana pela ajuda em tudo, principalmente paciência para as minhas infindáveis perguntas e medos sobre tudo relacionado com o Doutoramento e fora dele.

À Raquel pela sua alegria contagiante mesmo quando para nós a vida não era um mar de rosas. Obrigado por tentares torná-la assim e por toda a ajuda.

À Inês pelos momentos agradáveis no ginásio, no facebook ou mesmo nas nossas noites de Bairro Alto, por me fazer rir em qualquer situação, mesmo a mais complicada.

A todos os meus outros amigos que directa ou indirectamente me ajudaram a realizar este sonho, dando-me o seu apoio incondicional e alegria ao longo de todos os anos.

A toda a minha família, presente fisicamente ou em espírito durante este tempo todo e que me deu sempre a sua ajuda e apoio, sorriso ou mesmo um puxão de orelhas quando as coisas não estavam a correr tão bem. Hoje vejo a importância desses momentos.

Ao meu Pai, por ter-me ajudado em todos os aspectos quer emocional, quer material e ter suportado todas as minhas manias e gostos, por mais estranhos que parecessem.

À minha Mãe, por tudo o que fez por mim, por me ter educado como sou, mesmo que não seja do agrado de todos, e por me ter ajudado suportando tantos problemas, às vezes desnecessários mas, mantendo um sorriso e um afecto sempre que precisava e me ter dito sempre que era capaz.

Aos meus avós,
*que infelizmente não estão presentes fisicamente
mas que ficariam de certeza muito orgulhos de mim e,*

Aos meus Pais,
por tudo que fizeram

Presentemente, o estudo da libertação controlada de fármacos, tem recebido bastante atenção por parte da comunidade científica, devido às suas aplicações biomédicas. A maneira de controlar a libertação passa pela formulação dos sistemas, sendo que a maioria deles se baseia em polímeros, copolímeros e misturas de polímeros com outros materiais. Atendendo às suas propriedades, nomeadamente biocompatibilidade e biodegradação, os polissacarídeos, como o Dextrano ou Quitosano apresentam-se como materiais poliméricos promissores para a sua aplicação, nomeadamente em géis – veículos de drogas de aplicação tópica muito utilizados em farmacologia.

Actualmente existem diversos estudos envolvendo este tipo de materiais e respectiva aplicabilidade como biomaterial focando-se a maioria deles na necessária modificação para a obtenção de velocidades de libertação de fármacos desejáveis. Todavia, e apesar dessa quantidade de trabalhos, ainda existem poucos estudos sobre a influência do tempo de reacção e dos métodos reaccionais nas características finais dos géis. O objectivo deste trabalho centrou-se na síntese de copolímeros de enxerto ("*graft*") de bases Dextrano e Quitosano, usando, como comonomero a N-Isopropilacrilamida (NIPAAm), com intuito de preparar copolímeros termossensíveis. Para além das diferentes sínteses, efectuaram-se também estudos sistemáticos ainda inexistentes na literatura, nomeadamente a influência do tempo de reacção na copolimerização do gel e nas características inerentes à mesma, tais como: o perfil de incorporação e libertação de água, a Temperatura crítica de solução inferior, as energias de superfície e respectivos ângulos de contacto e os perfis de incorporação e libertação de fármacos.

A escolha daquele monómero (NIPAAm) ficou a dever-se às características do polímero resultante, nomeadamente a sua termossensibilidade na região da temperatura corporal humana (a temperatura de solução crítica inferior do polímero em água é de 32,5°C), sendo ideal, por isso, para servir de base a biomateriais.

Os polímeros base foram dissolvidos nos meios aquosos apropriados (água para Dextrano e ácido acético com concentração de 5% (v/v) para o Quitosano). A reacção de copolimerização de enxerto foi realizada seguindo diferentes metodologias. A primeira consistiu na introdução do copolímero com recurso a radiação de alta energia, nomeadamente a radiação γ . A segunda foi realizada com a utilização de um iniciador químico, o Nitrato de Cério-Amónio (IV) que introduzia radicais nos grupos hidroxilo dos polissacarídeos que, por sua vez iniciavam a reacção de polimerização. Finalmente a terceira, consistia na introdução, primeiramente, de grupos vinílicos no anel de Dextrano, com recurso a um isocianato com ligação dupla numa das pontas e, seguidamente, utilizando um fotoiniciador, Irgacure®2959 e radiação UV efectuou-se a polimerização. Para o estudo de libertação de fármaco foi utilizado como exemplo o Ondansetron®, um antiemético utilizado com frequência durante o tratamento de quimioterapia por parte dos doentes de cancro, de forma a prevenir os vómitos associados a este tipo de tratamento, a ser aplicado como um patch. Para além das diferentes técnicas de polimerização, foram utilizados diferentes tempos de reacção de forma a avaliar a influência deste na constituição química de cada sistema.

Diferentes técnicas de caracterização foram utilizadas durante este trabalho. Para avaliar a quantidade de co-polímero introduzido em cada sistema foram realizadas análises elementares, em particular a determinação da percentagem de azoto presente em cada sistema, FTIR-ATR e $^1\text{H-NMR}$. Os resultados mostraram que todos os sistemas apresentavam aumentos significativos na quantidade de co-polímero introduzida com o aumento do tempo de reacção. Foi também estudada a variação da Temperatura de solução crítica inferior de cada sistema com recurso à espectroscopia do visível, observando-se um aumento desta com o aumento da concentração de NIPAAm no sistema e, conseqüentemente com o tempo de reacção

utilizado em cada um. Estudos da energia de superfície mostraram que todos os sistemas apresentavam valores que mostravam a adesão destes à pele e a sua aplicação como patches de libertação controlada de fármaco. Finalmente, os estudos de libertação de água e fármaco mostraram que os sistemas se comportavam como hidrogéis e, ao mesmo tempo, como sistemas de libertação controlada, apresentando libertação variável com a temperatura do ensaio, devido à presença do co-polímero termossensível no sistema.

Globalmente, os resultados obtidos mostram que é possível a obtenção de géis com características distintas, tais como absorção de água ou libertação de fármacos, permitindo a sua aplicabilidade num leque vasto de aplicações. Dado que a medicina requer a preparação de materiais com características facilmente manipuláveis, este trabalho foi um contributo importante para o esclarecimento de alguns dos parâmetros que controlam essas variáveis, nomeadamente, a temperatura crítica de solução e consequente alteração nas outras características do gel, como perfil de libertação do fármaco.

ABSTRACT

Due to their biomedical applications controlled drug delivery studies have received recently much attention from the scientific community. The way to control the release depends on the used materials in the formulation, and most of the used systems are polymers, copolymers or a mixture of polymers with other materials. Due to their properties, such as biocompatibility and biodegradability, polysaccharides, such as chitosan and dextran appear as promising polymeric materials for these applications, especially gels drug carriers for topic applications extensively used in pharmacology.

At the moment there are different studies regarding these types of materials and their applications as biomaterials, most of them focusing their modifications to obtain the necessary pattern of drug release. Nonetheless, and although the large amount of studies published, only a few of them study the influence of the reaction time and the different reaction methods on the final characteristics of gels. The aim of this work was to prepare graft polymer hydrogels from chitosan and dextran using as a comonomer N-Isopropylacrylamide. The choice of this particular monomer has due to its thermoproperties, especially because it presents a Low Critical Solution Temperature near the human body temperature.

Besides the different types of reaction synthesis, we performed some studies about the influence of the graft copolymerization time on the final characteristics of each gel, such us, incorporation and release of water, the lower critical solution temperature, surface energies and contact angles and the release pattern.

The starting polymers were dissolved on the appropriate aqueous media (simple water for dextran, and 5% (v/v) acetic acid for chitosan). The graft

copolymerization was initiated by gamma irradiation, by using ammonium cerium (IV)–nitrate radical initiator which created free radicals in the hydroxyl groups of the polysaccharide or by photopolymerization. In this case a double bond was introduced by reacting the polysaccharide with an isocyanate with one double bond. A biocompatible photoinitiator, Irgacure®2959 for the photopolymerization was applied. As model drug we used a potent antiemetic substance used in the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting, Ondansetron® which was incorporated in the gel both before and after the copolymerization, to be applied as a patch.

Different characterizations were made during this work. To evaluate the amount of copolymer introduced in each system, elemental analysis, FTIR-ATR e ¹H-NMR, were performed to each system, to determine the total amount of Nitrogen present. The results showed that all systems presented significant increase in the total amount of copolymer introduced with the increase of the reaction or irradiation time. We studied also the lower critical solution temperature of each system, using UV-Vis spectroscopy, where we could verify the increase in the value of this property with the increase of the comonomer concentration, and, the reaction time. Surface energy studies showed that all systems presented values allowing adhesion to the skin and their application as patches for controlled release of drugs. Finally release studies of both water and drug showed that all systems behave as hydrogels and, at the same time, as drug delivery systems, showing different release rates according with the temperature of each essay, due to the presence of the thermosensitive copolymer in the system.

Globally, the results obtained shown that it is possible to obtain gels with different characteristics, such as water uptake or release of drugs in a controlled way, allowing the usage of all gels for different applications. Due to the fact that medicine nowadays needs the preparation of materials with characteristics that can be easily changed, this work was an important contribute to enlighten the influence of some parameters that control those characteristics, e.g., Low critical solution temperature and all the characteristics of each gel, like the release pattern.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
Dex	Dextrano
DMSO	Dimetilsulfóxido
FTIR-ATR	Espectroscopia de Infravermelho com reflexão total atenuada
HEMA	Metacrilato de Hidroxietilo
IEMA	Metacrilato de 2-Isocianoetilo
LCST	Temperatura crítica de solução
NCA	Nitrato de Cérium-Amónio (IV)
NIPAAm	N-Isopropilacrilamida
PBS	Solução de Tampão Fostato
PNIPAAm	Poli (N-Isopropilacrilamida)
PVC	Poli (Cloro de vinilo)
Quit	Quitossano
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Vis	Radiação Visível
UV	Radiação Ultravioleta

NOMENCLATURA

A	Absorvância
ε	Coefficiente de extinção
λ	Comprimento de Onda
I_o	Intensidade da radiação incidente
I_t	Intensidade da radiação transmitida
m_g	Massa de polímero após a reacção
m_o	Massa de polímero original
M_t	Massa de fármaco libertada num instante t
M_∞	Massa total de fármaco imobilizada
n	Expoente característico da difusão
γ_s	Energia de superfície do sólido
γ_{sl}	Tensão de interface líquido-sólido
γ_L	Tensão superficial do líquido
γ_L^D	Componente dispersiva do líquido
γ_L^P	Componente polar do líquido
γ_s^D	Componente dispersiva do sólido
γ_s^P	Componente polar do sólido

R		Coeficiente de Regressão linear
T		Temperatura
θ		Ângulo de contacto
W_s		Peso seco
W_m		Peso molhado

Resumo	ix
Abstract	xiii
Lista de Abreviaturas	xv
Nomenclatura	xvii
Índice Geral	xix
Índice de Figuras	xxv
Índice de Tabelas	xxxi
Capítulo 1 - Introdução	1
1. Introdução	3
1.1. MATERIAIS POLIMÉRICOS COMO BIOMATERIAIS	3
1.2. HIDROGÉIS	5
1.2.1. Dextrano	8
1.2.2. Quitosano	11
1.3. HIDROGÉIS INTELIGENTES	14
1.3.1. Poli (N-Isopropilacrilamida)	20
1.4. SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA	22

1.4.1. Liberação Controlada de Fármacos por Difusão	24
1.4.2. Liberação Controlada por Penetração de Água	25
1.4.3. Liberação Controlada por Agentes Químicos	25
1.5. DOENÇAS CANCERÍGENAS	27
1.6. ONDANSETRON®	29
Bibliografia	32
Capítulo 2 – Materiais e Métodos	39
2. Introdução	41
2.1. REAGENTES	41
2.2. PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE DEXTRANO E QUITOSANO	42
2.2.1. Preparação da solução de Dextrano	43
2.2.2. Preparação da solução de Quitosano	43
2.3. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	44
2.3.1. Análise Elementar	44
2.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	44
2.3.3. Ressonância Magnética Nuclear do Protão (¹ H-RMN)	45
2.3.4. Avaliação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)	45
2.3.5. Determinação da capacidade de absorção e liberação de água	46
2.3.6. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície	47

2.3.7. Avaliação do padrão de libertação do fármaco	48
2.3.7.1. Preparação da solução de tampão fosfato	48
2.3.7.2. Determinação da curva padrão do fármaco	49
2.3.7.3. Ensaios de libertação	49
BIBLIOGRAFIA	50
Capítulo 3 – Hidrogéis Preparados por Irradiação Gama	51
Gama	
3. Hidrogéis Preparados por Irradiação Gama	53
3.1. INTRODUÇÃO	53
3.2. PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS	56
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
3.3.1. Análise Elementar	60
3.3.1.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	60
3.3.1.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	63
3.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	68
3.3.2.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	69
3.3.2.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	73
3.3.3. Ressonância Magnética Nuclear do Protão (¹ H-RMN)	75
3.3.3.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	78
3.3.3.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	81
3.3.4. Determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)	84
3.3.4.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	84

3.3.4.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	87
3.3.5. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água	90
3.3.5.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	90
3.3.5.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	101
3.3.6. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície	110
3.3.6.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	113
3.3.6.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	117
3.3.7. Avaliação do padrão de libertação do fármaco	121
3.3.7.1. <i>Sistemas de base Dextrano</i>	125
3.3.7.2. <i>Sistemas de base Quitosano</i>	135
3.4. CONCLUSÕES	142
BIBLIOGRAFIA	145
Capítulo 4 – Hidrogéis Preparados por Iniciação Química	149
4. Hidrogéis Preparados por Iniciação Química	151
4.1. INTRODUÇÃO	151
4.2. PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS	153
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	155
4.3.1. Análise Elementar	157
4.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	161

4.3.3. Ressonância Magnética Nuclear do Protão (¹ H-RMN)	166
4.3.4. Determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)	171
4.3.4.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	172
4.3.4.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	174
4.3.5. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água	176
4.3.5.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	176
4.3.5.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	185
4.3.6. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície	193
4.3.6.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	194
4.3.6.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	198
4.3.7. Avaliação do padrão de libertação do fármaco	202
4.3.7.1. <i>Sistemas de base Dextrano</i>	203
4.3.7.2. <i>Sistemas de base Quitosano</i>	210
4.4. CONCLUSÕES	216
BIBLIOGRAFIA	219
Capítulo 5 – Hidrogéis Preparados por Fotoiniciação	223
5. Hidrogéis Preparados por Fotoiniciação	225
5.1. INTRODUÇÃO	225
5.2. PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS	228
5.2.1. Materiais	228

5.2.1. Síntese	228
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	230
5.3.1. Análise Elementar	231
5.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	234
5.3.3. Determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)	240
5.3.4. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água	243
5.3.5. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície	252
5.3.6. Avaliação do padrão de libertação do fármaco	257
5.4. CONCLUSÕES	263
BIBLIOGRAFIA	266
Capítulo 6 - Conclusões	269

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 – Esquema dos métodos de preparação de hidrogéis de origem química e física.	6
Figura 1.2 – Estrutura molecular do Dextrano.	9
Figura 1.3 – Reacção de desacetilação da Quitina em Quitosano.	12
Figura 1.4 – Diagrama de fases representativo de um sistema com LCST e UCST	15
Figura 1.5 – Variação na conformação de polissacarídeos termossensíveis com a alteração da temperatura.	17
Figura 1.6 – Estrutura genérica dos derivados da Acrilamida, particularmente Poli(N-Isopropilacrilamida) e Poli (N,N – Dietilacrilamida).	20
Figura 1.7 – Perfil de concentração de um fármaco após administrações sucessivas do mesmo e comparação com os níveis de tratamentos ideais para a doença.	23
Figura 1.8 – Estrutura química do Ondansetron®.	30
Figura 3.1 – Espectro da luz.	54
Figura 3.2 – Imagem dos géis obtidos por irradiação γ .	57
Figura 3.3 – Reacção provável entre Dextrano e N-Isopropilacrilamida, sob a presença de radiação γ .	59
Figura 3.4 – Variação da percentagem de Azoto presente nas amostras de Dextrano ao longo dos diferentes tempos de irradiação.	60

Figura 3.5 — Resultados obtidos para os sistemas de base Dextrano.	63
Figura 3.6 — Variação da percentagem de azoto presente nas amostras de Quitosano ao longo dos diferentes tempos de irradiação.	64
Figura 3.7 — Resultados obtidos para os sistemas de base Dextrano.	65
Figura 3.8 — Espectro de FTIR do Dextrano.	69
Figura 3.9 — Espectro de FTIR de NIPAAm.	70
Figura 3.10 — Espectros de FTIR-ATR obtidos para o Dextrano, sistema 1 e sistema 5.	71
Figura 3.11 — Espectro de FTIR para o Quitosano.	73
Figura 3.12 — Espectro de FTIR-ATR para o Quitosano e o sistema 6.	74
Figura 3.13 — Espectro de ¹ H-RMN de Dextrano.	78
Figura 3.14 — Espectro de ¹ H-RMN do sistema de Dextrano com 1 hora de irradiação.	79
Figura 3.15 — Espectro de ¹ H-RMN obtido para o sistema de Dextrano com 5 horas de irradiação.	80
Figura 3.16 — Espectro de ¹ H-RMN de Quitosano puro.	81
Figura 3.17 — Espectro de ¹ H-RMN para o sistema de base Quitosano com 1 hora de irradiação.	82
Figura 3.18 — Espectro de ¹ H-RMN para o sistema de base Quitosano com 5 horas de irradiação.	83
Figura 3.19 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Dextrano, PNIPAAm e sistemas 1 e 5.	85
Figura 3.20 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Quitosano, PNIPAAm e sistemas 6 e 10.	88
Figura 3.21 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 25°C.	91

Figura 3.22 — Regressão linear para os valores logaritmizados de absorção de água do sistema 1 a 25°C.	93
Figura 3.23 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano, a 37°C.	95
Figura 3.24 — Regressão linear para os valores logaritmizados de absorção de água do sistema 1, a 37°C.	96
Figura 3.25 — Libertação de água de todos os sistemas de base Dextrano, a 25°C.	98
Figura 3.26 — Libertação de água dos sistemas de base Dextrano, a 37°C.	100
Figura 3.27 — Absorção de água para os sistemas de base Quitosano a 25°C.	102
Figura 3.28 — Evolução da percentagem de água absorvida por cada sistema a 37°C.	104
Figura 3.29 — Libertação de água de todos os sistemas de base Quitosano, a 25°C.	106
Figura 3.30 — Libertação de água de todos os sistemas de base Quitosano, a 37°C.	108
Figura 3.31 — Esquema para a determinação de ângulos de contacto.	110
Figura 3.32 — Espectro UV-Visível do Ondansetron®.	123
Figura 3.33 — Curva-padrão do Ondansetron®.	124
Figura 3.34 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Dextrano, a 25°C.	126
Figura 3.35 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Dextrano, a 37°C.	128
Figura 3.36 — Representação da variação de M_t/M_∞ em função de $t^{1/2}$ para o sistema de Dextrano com 1 hora de irradiação.	130
Figura 3.37 — Representação gráfica da regressão linear dos valores obtidos para a libertação do sistema 1, a 25°C.	132

Figura 3.38 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Quitosano, a 25°C.	137
Figura 3.39 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Quitosano, a 37°C.	138
Figura 3.40 — Representação gráfica da regressão linear dos valores obtidos para a libertação do sistema 6, a 25°C.	140
Figura 4.1 — NCA em pó tal como obtido pela técnica descrita anteriormente.	152
Figura 4.2 — Reacção provável entre Dextrano e N-Isopropilacrilamida com recurso a NCA como iniciador.	156
Figura 4.3 — Variação da percentagem de azoto presente nas amostras ao longo dos diferentes tempos de reacção	157
Figura 4.4 — Espectro de FTIR do sistema 1.	162
Figura 4.5 — Espectro de FTIR do sistema 6.	163
Figura 4.6 — Espectro de FTIR do sistema 5.	164
Figura 4.7 — Resultados para o FTIR-ATR do sistema 10.	165
Figura 4.8 — Espectro de ¹ H-RMN do sistema de Dextrano com 1 hora de reacção.	167
Figura 4.9 — Espectro de ¹ H-RMN do sistema de Quitosano com 1 hora de reacção.	168
Figura 4.10 — Espectro de ¹ H-RMN do sistema de Dextrano com 5 hora de reacção.	169
Figura 4.11 — Espectro de ¹ H-RMN para o sistema de base Quitosano com 5 horas de irradiação.	170
Figura 4.12 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Dextrano, PNIPAAm e sistemas 1 e 5.	172

Figura 4.13 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Quitosano, PNIPAAm e sistemas 6 e 10.	174
Figura 4.14 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 25°C.	176
Figura 4.15 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 37°C.	178
Figura 4.16 — Variação da libertação de água com o tempo, para todos os sistemas de base Dextrano, a 25°C.	181
Figura 4.17 — Variação da libertação de água com o tempo para os sistemas de base Dextrano a 37°C	183
Figura 4.18 — Variação da percentagem de absorção de água com o tempo para os sistemas de base Quitosano a 25°C.	186
Figura 4.19 — Evolução da percentagem de água absorvida por cada sistema a 37°C.	187
Figura 4.20 — Variação da libertação de água com o tempo para todos os copolímeros de base Quitosano, a 25°C.	189
Figura 4.21 — Variação da libertação de água com o tempo para todos os sistemas de base Quitosano a 37°C.	191
Figura 4.22 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Dextrano a 25°C.	203
Figura 4.23 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Dextrano a 37°C	205
Figura 4.24 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Quitosano a 25°C.	210
Figura 4.25 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Quitosano a 37°C.	212
Figura 5.1 — Estrutura química do Irgacure® 2959.	227

Figura 5.2 — Esquema reaccional da modificação e posterior reacção do Dextrano com N-Isopropilacrilamida.	230
Figura 5.3 — Espectro de FTIR do IEMA.	235
Figura 5.4 — Espectro de FTIR de Dextrano com IEMA com grau de substituição de 25%.	236
Figura 5.5 — Espectro de FTIR de Dextrano com IEMA com grau de substituição de 33%.	237
Figura 5.6 — Espectro de FTIR de Dextrano modificado com PNIPAAm com grau de substituição de 25%.	238
Figura 5.7 — Espectro de FTIR de Dextrano modificado com PNIPAAm com grau de substituição de 33%.	239
Figura 5.8 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Dextrano, PNIPAAm e ambos os sistemas com os diferentes graus de substituição.	241
Figura 5.9 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 25°C.	243
Figura 5.10 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 37°C.	246
Figura 5.11 — Libertação de água de ambos os sistemas a 25°C.	248
Figura 5.12 — Libertação de água dos sistemas de base Dextrano a 37°C.	250
Figura 5.13 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas a 25°C.	259
Figura 5.14 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas a 37°C.	260

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.I – Principais tipos de cancro por género.	27
Tabela 3.I — Tempos de reacção utilizados para irradiar os diferentes sistemas.	56
Tabela 3.II — Variação da percentagem de copolímero com o tempo de reacção nos sistemas de Dextrano.	62
Tabela 3.III — Variação da percentagem de copolímero com o tempo de reacção nos sistemas de Quitosano.	66
Tabela 3.IV — Resultados obtidos para os expoentes característicos da difusão de água e coeficiente de correlação para os sistemas de base Dextrano a 25°C	94
Tabela 3.V — Resultados obtidos para os expoentes característicos da difusão de água e de correlação para todos os sistemas de base Dextrano, a 37°C.	97
Tabela 3.VI — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Dextrano	99
Tabela 3.VII — Valores matemáticos obtidos para a absorção de água a 37°C.	101
Tabela 3.VIII — Resultados obtidos para os expoentes característicos da difusão de água e coeficiente de correlação para os sistemas de base Quitosano a 25°C	103

Tabela 3.IX — Resultados obtidos para os expoentes característicos da difusão de água e coeficiente de correlação para os sistemas de base Quitosano, a 37°C.	105
Tabela 3.X — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Quitosano, a 25°C.	107
Tabela 3.XI — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Quitosano, a 37°C.	109
Tabela 3.XII — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água, a 25°C.	112
Tabela 3.XIII — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água, a 37°C.	114
Tabela 3.XIV — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície, para 25°C.	115
Tabela 3.XV — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.	116
Tabela 3.XVI — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água, a 25°C.	117
Tabela 3.XVII — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 37°C.	118
Tabela 3.XVIII — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 25°C.	119
Tabela 3.XIX — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.	120
Tabela 3.XX — Valores de fármaco absorvido por cada sistema.	125
Tabela 3.XXI — Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas de Dextrano a 25°C e 37°C	131

Tabela 3.XXII — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da libertação controlada de Ondansetron® para os sistemas de base Dextrano.	133
Tabela 3.XXIII — Valores de fármaco absorvido por cada sistema de base Quitosano para as duas temperaturas testadas.	135
Tabela 3.XXIV — Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas de Dextrano a 25°C e 37°C	139
Tabela 3.XXV — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da libertação controlada de Ondansetron® para os sistemas de base Quitosano.	141
Tabela 4.I — Tempos de reacção utilizados para os diferentes sistemas.	154
Tabela 4.II — Variação da percentagem de copolímero com o tempo de reacção.	160
Tabela 4.III — Resultados obtidos para o expoente característico da difusão de água e o coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Dextrano, a 25°C.	177
Tabela 4.IV — Resultados obtidos para o expoente característico da difusão de água e o coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Dextrano, a 37°C.	180
Tabela 4.V — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Dextrano.	182
Tabela 4.VI — Valores matemáticos obtidos para a absorção de água a 37°C.	184
Tabela 4.VII — Resultados obtidos para o expoente característico da difusão de água e o coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Quitosano a 25°C.	187

Tabela 4.VIII — Resultados obtidos para o expoente característico da difusão de água e o coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Quitosano a 37°C.	188
Tabela 4.IX — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Quitosano a 25°C.	190
Tabela 4.X — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Quitosano a 37°C.	192
Tabela 4.XI — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 25°C.	194
Tabela 4.XII — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 37°C.	195
Tabela 4.XIII — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 25°C.	196
Tabela 4.XIV — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.	197
Tabela 4.XV — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 25°C.	198
Tabela 4.XVI — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 37°C.	199
Tabela 4.XVII — Valores alcançados para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 25°C.	200
Tabela 4.XVIII — Valores alcançados para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.	201
Tabela 4.XIX — Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas de Dextrano a 25°C e a 37°C.	207
Tabela 4.XX — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da libertação controlada de Ondansetron® para os sistemas de base Dextrano.	208
Tabela 4.XIX — Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas de Dextrano a 25°C e a 37°C.	213

Tabela 4.XXII — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da libertação controlada de Ondansetron® para os sistemas de base Quitosano.	214
Tabela 5.I — Percentagem de azoto obtida por análise elementar após a reacção de modificação de Dextrano.	232
Tabela 5.II — Percentagem de azoto obtida por análise elementar após a reacção de modificação de Dextrano.	232
Tabela 5.III — Variação da percentagem de copolímero com o tempo de reacção.	234
Tabela 5.IV — Resultados obtidos para os expoentes de difusão da água e o coeficiente de correlação, a 25°C.	245
Tabela 5.V — Resultados obtidos para os expoentes de difusão da água e o coeficiente de correlação, a 37°C.	247
Tabela 5.VI — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Dextrano.	249
Tabela 5.VII — Valores matemáticos obtidos para a absorção de água a 37°C.	251
Tabela 5.VIII — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 25°C.	253
Tabela 5.IX — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 37°C.	254
Tabela 5.X — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 25°C.	255
Tabela 5.XI — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.	256
Tabela 5.XII — Valores de fármaco absorvido por cada sistema.	257

Tabela 5.XIII — Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas a 25°C e a 37°C.	261
Tabela 5.XIV — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da liberação controlada de Ondansetron® para os sistemas estudados.	262

Introdução

1. Introdução	3
1.1. MATERIAIS POLIMÉRICOS COMO BIOMATERIAIS	3
1.2. HIDROGÉIS	5
1.2.1. Dextrano	8
1.2.2. Quitosano	11
1.3. HIDROGÉIS INTELIGENTES	14
1.3.1. Poli (N-Isopropilacrilamida)	20
1.4. SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA	22
1.4.1. Libertação Controlada de Fármacos por Difusão	24
1.4.2. Libertação Controlada por Penetração de Água	25
1.4.3. Libertação Controlada por Agentes Químicos	25
1.5. DOENÇAS CANCERÍGENAS	27
1.6. ONDANSETRON®	29
Bibliografia	32

1. Introdução

Ao longo deste capítulo, procurar-se-á dar uma ideia sobre a aplicação de materiais poliméricos na área dos biomateriais.

1.1. Materiais poliméricos como biomateriais

Os materiais poliméricos e a sua utilização quotidiana remontam à Antiguidade, sendo que, no entanto, durante esse tempo, apenas eram utilizados materiais de origem natural, como o Âmbar, a Seda, a Celulose, o Amido e a Borracha natural, trazida para a Europa durante as explorações marítimas do século XVI e utilizada como material para desporto ou impermeável. Foi a partir do século XVIII, com a evolução da tecnologia de síntese em Química Orgânica, que a produção de novos Polímeros de origem sintética e a modificação dos naturais já em uso aumentaram.

Em 1839, Charles Goodyear descobriu que, ao aquecer a Borracha Natural na presença de Enxofre, obteria um material com uma durabilidade muito superior à da borracha até então utilizada. Até ao início do século XX, os novos polímeros sintetizados tinham como base modificações nos materiais de origem natural já utilizados.

Em 1907, Leo Baekeland criou o primeiro polímero totalmente sintético através de uma reacção com Fenol e Formaldeído, originando a Baquelite, tendo esta sido introduzida a partir de 1909.

Durante todo o século XX, a industrialização e a comercialização de todo o tipo de polímeros ganharam importância. Materiais como o Nylon, o Poli(Cloreto de Vinilo), vulgarmente conhecido como PVC, ou o Poli(Álcool Vinílico) são hoje utilizados em aplicações tão distintas como a construção, a indústria automóvel e o

vestuário, entre outras. Uma outra aplicação que tem ganho bastante importância nos nossos dias é a utilização dos polímeros como biomateriais.

Biomateriais podem ser descritos como materiais de origem natural ou sintética, que são passíveis de ser utilizados ou adaptados para uso médico, implicando a sua interacção com sistemas biológicos. Neste contexto específico de aplicação, destacam-se quatro grupos distintos de materiais que podem ser utilizados como biomateriais: cerâmicos, metais, polímeros e compósitos. Nestes, verifica-se uma evolução mais acentuada no uso de polímeros como biomateriais. O interesse neste tipo de biomateriais prende-se com a sua facilidade de preparação, a grande variedade de compostos gerados por reacções de polimerização e a sua biocompatibilidade. As suas aplicações na área da medicina são vastas, indo desde a oftalmologia (na criação de novas lentes), à ortopedia, cardiologia e cirurgia cardiovascular, até aos sistemas de libertação controlada (Wu *et al*, 2005; Qiu e Park, 2001; Hoffman, 1987).

A utilização dos polímeros tem vindo a aumentar na área médica com vista à substituição de materiais clássicos como os metais. Deste modo, em meados dos anos 90, eram encontrados por volta de 8000 diferentes tipos de dispositivos médicos, 2500 produtos de diagnóstico e 40 000 preparações farmacêuticas diferentes, todos usando biomateriais.

Outro factor importante a considerar na utilização de certos polímeros como biomateriais é a biodegradação. Nos casos em que o polímero não se degrada dentro do corpo é necessária a remoção do mesmo com recurso à cirurgia, implicando um alto custo e risco para o paciente. Desta forma o uso de polímeros biodegradáveis é muito importante. Este tipo de material degrada-se *in vivo* em fragmentos menores que podem ser excretados pelo corpo. A degradação pode ocorrer através de um processo biológico activo (através da participação de enzimas presentes no organismo), por meio passivo (como resultado de reacções químicas) ou simplesmente pela solubilização do polímero.

A vantagem de se usarem biopolímeros resulta da capacidade de estes serem manipulados ou alterados, produzindo-se deste modo biomateriais contendo grupos

hidrofílicos específicos ou com grupos biodegradáveis. Além disso, modificações na superfície desses materiais com a fixação de grupos químicos específicos podem melhorar ou introduzir características novas como biocompatibilidade, por exemplo.

1.2. Hidrogéis

Os Hidrogéis podem ser definidos como estruturas poliméricas tridimensionais, altamente hidrofílicas, cuja principal propriedade é a de absorverem grandes quantidades de água ou fluidos biológicos (Peppas *et al*, 2000). Podem ser quimicamente estáveis ou degradarem-se com o tempo, podendo, no limite, desintegrar-se (Hoffman, 2002).

Os hidrogéis podem ser agrupados em duas classes distintas, de acordo com o método de formação e de manutenção da sua estrutura polimérica (Peppas, 1996). Deste modo, temos os géis reversíveis ou físicos, formados por estruturas que se mantêm como resultado de interações a nível intra ou intermolecular, como ligações iónicas, ligações de hidrogénio entre outras. Por outro lado, temos os hidrogéis permanentes ou químicos, quando são formados por estruturas químicas resultantes de ligações covalentes. Estes últimos podem ser formados através de reticulação de polímeros solúveis em água com outros materiais ou da conversão de polímeros hidrofóbicos em hidrofílicos através de reacções de reticulação por forma a originar uma rede polimérica (Ratner *et al*, 1996). A figura seguinte apresenta, em esquema, as diferentes formas de preparação dos tipos de hidrogéis:

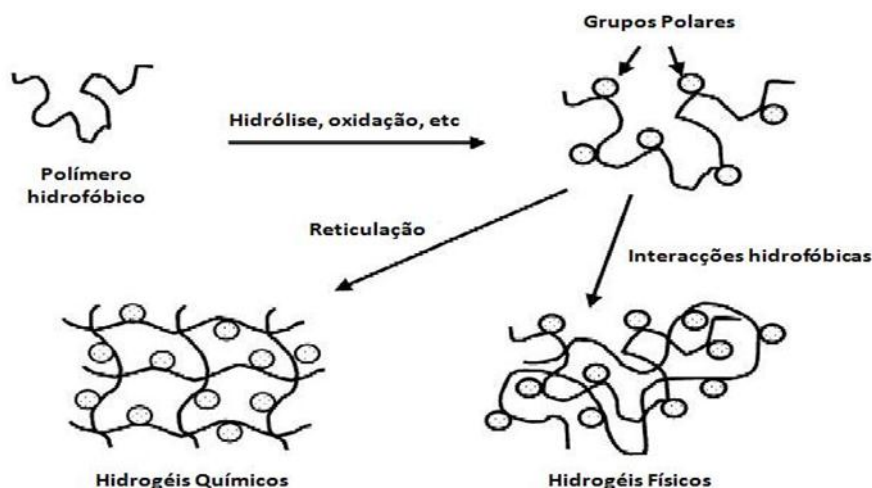


Figura 1.1 – Esquema dos métodos de preparação de hidrogéis de origem química e física (Hoffman, 2002).

O método de absorção de água num hidrogel foi estudado por diversos cientistas e pode ser facilmente descrito do seguinte modo: quando um hidrogel seco inicia o seu processo de absorção de água, as primeiras moléculas por ele absorvidas irão hidratar as moléculas mais polares da estrutura polimérica, levando a um primeiro tipo de ligação da água com as moléculas do polímero. À medida que estes grupos vão sendo hidratados, ocorre o aumento físico da estrutura polimérica, levando à exposição das moléculas mais hidrofóbicas, até então mais resguardadas no interior da matriz polimérica. Estas interagem com as moléculas de água, levando ao aparecimento de um segundo tipo de ligação das moléculas de água com os componentes mais hidrofóbicos do polímero.

Para além destes dois métodos de retenção de água no interior do hidrogel, ocorre ainda um terceiro método, resultando da difusão osmótica entre as cadeias. A todo este processo, opõem-se as forças covalentes e as reticulações físicas que mantêm a estrutura do hidrogel e lhe conferem a sua capacidade elástica. Deste modo, o equilíbrio entre as forças de absorção e retenção de água, e as de estrutura

do hidrogel permitem que este atinja o equilíbrio relativamente à quantidade máxima de água por ele absorvida (Hennink & Nostrum, 2002).

O seu campo de aplicação é vasto e vai desde a agricultura, onde são utilizados como substitutos do solo, ao interior das fraldas descartáveis, onde são utilizados como superabsorventes, ou na área dos biomateriais (Park *et al*, 1993).

Dadas as suas propriedades, é facilmente se compreende que a sua utilização como biomateriais seja, actualmente, uma área em grande desenvolvimento. A história dos hidrogéis como biomateriais remonta aos anos 60 do século XX, quando Wichterle e Lim prepararam pela primeira vez hidrogéis de Metacrilato de Hidroxietilo (HEMA) (Wichterle & Lim, 1960). Já na década de 80, investigações levadas a cabo por Lim e Sun demonstraram a aplicação de microcápsulas de alginato de sódio na encapsulação de células (Lim & Sun, 1980). Também durante os anos 80, um outro trabalho demonstrou a possibilidade de incorporação de polímeros naturais e de cartilagens de tubarão em hidrogéis para aplicações em queimados (Yannas *et al*, 1989). Desde aí hidrogéis baseados em polímeros naturais ou sintéticos têm sido utilizados como biomateriais em diversas aplicações, como na engenharia de tecidos, regeneração e reparação de órgãos e em sistemas de libertação controlada de fármacos em locais específicos do corpo.

Actualmente, existe um vasto leque de materiais que podem ser utilizados como base para um hidrogel para aplicação como biomaterial. Deste modo, podem existir hidrogéis preparados a partir de polímeros sintéticos, como, por exemplo, Poli(Álcool Vinílico) ou poli(Metacrilato de Hidroxietilo) (Lee & Mooney, 2001). Podemos também ter hidrogéis de base natural, ou seja, cujo material de preparação-base seja um polímero de origem natural, como os polissacarídeos ou as proteínas.

De entre os vários polímeros de origem natural existentes, os açúcares, nomeadamente a sacarose, têm sido bastante usados devido às suas propriedades, salientando-se particularmente a elevada hidrofiliabilidade e o seu baixo custo, que reduz os gastos na produção final do hidrogel.

No entanto, actualmente tem-se observado um interesse crescente em hidrogéis preparados a partir de polissacarídeos. Estes não são mais do que hidratos de carbono, nos quais ocorre uma repetição da sua unidade estrutural, um sacarídeo, ligada entre si através de ligações glicosídicas. A sua elevada hidrofiliabilidade, a facilidade através da qual se consegue produzir hidrogéis a partir deles e a biocompatibilidade têm feito destes materiais um objecto de estudo altamente utilizado na preparação de hidrogéis com fins biomédicos.

Existem vários exemplos de polissacarídeos que podem ser utilizados na preparação destes biomateriais, onde se inclui o Dextrano, Quitosano, Ácido Hialurónico ou a Celulose (Dumitriu *et al*, 1996). De todos os polissacarídeos, observa-se uma incidência maior no uso de Alginatos, material proveniente das algas castanhas, devido à sua facilidade em gelificar e à elevada biocompatibilidade. No entanto, este material apresenta uma desvantagem, já que é facilmente degradado por perdas dos iões divalentes, que, durante a preparação da solução, são solubilizados no meio aquoso. Daí que se tenha iniciado o estudo da preparação de biomateriais com base Dextrano e Quitosano.

1.2.1. Dextrano

Dextranos são polissacarídeos de peso molecular variado, mas tendencialmente elevado, constituídos por unidades de α -D-glucose ligadas entre si por ligações glicosídicas 1-6 (Can *et al*, 2005). A figura 1.2 mostra a estrutura molecular do Dextrano.

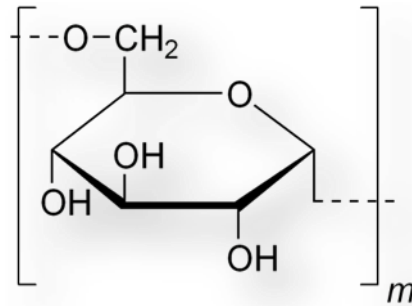


Figura 1.2 – Estrutura molecular do Dextrano [Adaptado de (Imren *et al*, 2006)].

A formação do Dextrano é predominantemente de base bacteriana, nomeadamente do tipo *Leuconostoc*, *Streptococcus* e *Lactobacillus*, a qual ocorre durante o crescimento destas bactérias a partir da sacarose (Lloyd *et al*, 1998).

Existe uma grande variedade de Dextranos com pesos moleculares diferentes. Dextranos de peso molecular baixo, normalmente menor do que 10 000, são eliminados do organismo através de uma filtração glomerular que ocorre ao nível dos rins. Para os outros Dextranos de pesos moleculares superiores, a sua eliminação passa por uma metabolização com recurso a enzimas, nomeadamente a dextranase, que se encontra presente em diversos órgãos humanos como fígado, rins ou cólon. Esta enzima transforma o Dextrano em glicose, sendo por fim hidrolisada em água e dióxido de carbono.

Os hidrogéis de Dextrano podem ser obtidos de diversos métodos. Edman (Edman *et al*, 1980) sintetizou hidrogéis de Dextrano através da incorporação química de acrilato de glicidilo em Dextrano em fase aquosa, seguido de uma polimerização radicalar na presença de N,N'-Metilenobisacrilamida. Por outro lado, foram preparados derivados de Acrilatos e Metacrilatos de Dextrano através da reacção do polissacarídeo com Anidrido Metacrílico com Brometo de Bromoacetil ou Acrilato de Sódio respectivamente (Won & Chu, 1999).

Os hidrogéis de Dextrano têm apresentado um grande interesse para a sua utilização como biomaterial porque possuem elevadas biocompatibilidade e facilidade em serem degradados enzimaticamente nos locais pretendidos, nomeadamente no cólon (Cadée *et al*, 2000).

Consoante o seu peso molecular, o Dextrano pode ser utilizado em medicina em situações tão distintas como:

- Tratamento de úlceras ou ferimentos de queimaduras (através do seu efeito crioprotector celular e cicatrizante);

- No tratamento de anemias ferropénicas;

- Como anticoagulante;

- Como substituto do plasma, por apresentar alta pressão osmótica, similar à pressão das proteínas plasmáticas (Walker, 1978).

- Sistema de Libertação controlada de proteínas (Van Tomme & Hennink, 2007).

Actualmente, já foram introduzidas diferentes técnicas para produzir hidrogéis de base Dextrano. Dada a sua facilidade em ser reticulado, o Dextrano forma géis com diversos compostos orgânicos ou inorgânicos (Hennink *et al*, 1997). Dos compostos utilizados encontram-se o 1,6-Hexadiisocianato (em Dimetilsulfóxido) ou Glutaraldeído. Foi também já efectuada a modificação de Dextrano com metacrilatos e posterior polimerização radicalar do Dextrano modificado com recurso a Peroxidissulfato de Amónio e N,N,N',N'-Tetrametiletlenodiamina (Van Dijk-Wolthuis *et al*, 1995). Outra polimerização de Dextrano consigo próprio envolveu o uso de Epicloridrina, ou ainda hidrogéis sensíveis ao pH com uso de Carboxilatos. Este último caso permite a protecção de fármacos da sua hidrólise devido aos ácidos gastrointestinais presentes na porção superior do aparelho gastrointestinal. Das suas diversas aplicações neste âmbito,

salienta-se o transporte de fármacos como agentes anti-cancro ou mesmo enzimas (Torres-Lugo & Peppas, 1999). Também já foram obtidos diversos géis através de polimerizações de enxerto (“*graft*”) de Dextrano utilizando para tal diversos métodos como o Nitrato de Cério Amónio, na introdução de N-Isopropilacrilamida(Lu *et al*, 2006), ou através da formação de estereocomplexos (Bos *et al*, 2005).

1.2.2. Quitosano

O Quitosano é um polissacarídeo catiónico, que resulta fundamentalmente da desacetilação alcalina da Quitina, sendo este último o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, após a Celulose (Rudall & Kenchington, 1973). A Quitina constitui também o principal material dos exoesqueletos dos crustáceos e insectos, encontrando-se também na parede celular de certos fungos e microorganismos (Yao *et al*, 1995). Ambos os polímeros são constituídos por unidades de 2-Acetamido-2-Deoxi-Dglicopiranosose e 2-Amino-2-Deoxi-Dglicopiranosose unidas por ligações glicosídicas $\beta(1-4)$ (Berger, J. *et al*, 2005). Na Quitina predominam as primeiras unidades ao passo que no Quitosano estas são substituídas, durante o processo de desacetilação, pelas segundas. A figura seguinte apresenta as estruturas da quitina e do Quitosano bem como a reacção de desacetilação alcalina da quitina em Quitosano.

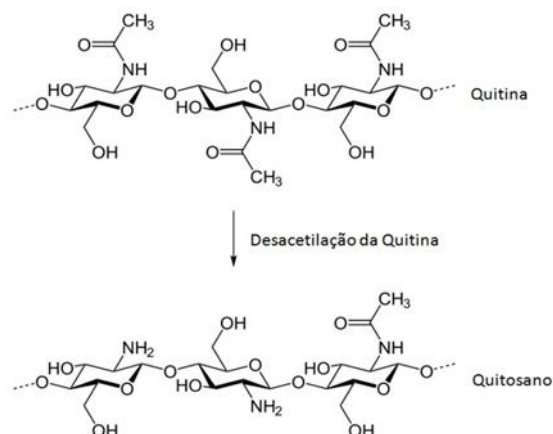


Figura 1.3 — Reacção de desacetilação da Quitina em Quitosano [Adaptado de (Martinez-Huitle *et al*, 2010)].

O uso do Quitosano em vez da Quitina prende-se com o facto de esta última não ser solúvel na maior parte dos solventes, ao passo que o Quitosano apresenta um grau de solubilidade um pouco maior, nomeadamente, em Ácidos Orgânicos (Agnihotri *et al*, 2004). Nestes meios, o Quitosano actua como um polielectrólito de elevada densidade de carga positiva, devido a protonação dos grupos Amina em grupos NH_3^+ , interagindo deste modo com moléculas de carga negativa, nomeadamente proteínas e gorduras (Berscht *et al*, 1994). Deste modo, quando colocado em ambiente ácido, como o estômago, por exemplo, o Quitosano absorve as gorduras durante a digestão formando uma “esponja”, sendo esta posteriormente eliminada ao nível do intestino, permitindo deste modo a não absorção de elementos gordos por parte do organismo. Para além desta aplicação, o Quitosano tem-se mostrado bastante útil noutras situações tão distintas como:

- Na agricultura, em mecanismos de defesa e adubação de plantas;

- No tratamento de águas residuais, através da sua capacidade de absorção de gorduras já anteriormente referida e como floculante para clarificação, e remoção de iões metálicos;

- Na indústria alimentar, como fibra sintética e redutor de absorção de gorduras e colesterol, conservante de molhos, fungicida e bactericida;

- Na indústria de cosméticos, como esfoliante para a pele, no tratamento da acne, como hidratante capilar ou como creme dental;

Para além destas aplicações, e dada a sua elevada biocompatibilidade, o Quitosano tem sido amplamente utilizado como biomaterial em diversas áreas da medicina (Ahn *et al*, 2001; Almeida *et al*, 2007; Ferreira *et al*, 2006). Na realidade, em virtude de ser altamente biocompatível e de não apresentar qualquer reacção alérgica ou de rejeição, e apresentar um elevado nível de biodegradação, quebrando-se em unidades de açúcar simples facilmente absorvido pelo corpo, tem sido cada vez mais utilizado para fins médicos (Kumar *et al*, 2004). Exemplos de aplicações são sutura cirúrgica, implante dentário, reconstituição óssea, lentes de contacto (como agente hidratante) (Rinaudo, 2006) ou libertações controladas de fármacos em animais e humanos, sendo utilizado em diversos locais de libertação como a via tópica (Rinaudo, 2006), oral (Ahn *et al*, 2001) ou rectal. Vários estudos têm demonstrado uma melhoria da solubilidade de alguns fármacos quando incorporados em formulações de Quitosano (Genta *et al*, 1994).

Outros estudos têm aprofundado métodos para efectuar copolimerizações de enxerto. Casimiro utilizou radiação γ para provocar a formação de radicais no Quitosano enxertando posteriormente HEMA (Casimiro *et al*, 2005) como barreira protectora para microorganismos. Também com radiação γ mas utilizando como

comonómero a N-Isopropilacrilamida (NIPAAm), Ikram sintetizou sistemas termossensíveis para aplicação na biomedicina (Ikram *et al*, 2011). Outro método também em grande utilização actualmente é o de usar Nitrato de Cério Amónio(IV) como iniciador da reacção de copolimerização de enxerto de Quitosano com diversos outros matérias tais como NIPAAm (Lee *et al*, 2004). Também dentro do mesmo método mas com recurso a Persulfato de Amónio, Mochalova sintetizou copolímeros de enxerto de Quitosano com Acrilamida (Mochalova *et al*, 2006)

1.3. Hidrogéis Inteligentes

De uma forma geral, os hidrogéis podem ser divididos em duas classes distintas: os hidrogéis convencionais e os hidrogéis inteligentes. Actualmente, muita atenção tem sido dada ao grupo de hidrogéis. Hidrogéis inteligentes são materiais poliméricos que possuem todas as características típicas de um hidrogel já mencionadas anteriormente, mas que apresentam respostas distintas de acordo com estímulos externos (Irie, 1993). Ou seja, eles variam a sua forma e estrutura consoante o meio onde são colocados e as respectivas variações de algumas características do mesmo (Dusek, 1993). Deste modo, encontramos hidrogéis que respondem a variações de pH, como os hidrogéis de base Acrilato (Qiu & Park, 2001); a variações de temperatura, como os hidrogéis de base N-Isopropilacilamida; e a variações de força iónica do meio, entre outros.

A grande vantagem apresentada por estes sistemas quando comparados com os convencionais é a de que é possível controlar diversas características adequando-as aos meios onde serão aplicadas. Por exemplo, pode ser sintetizado um sistema que seja dependente do pH para administração terapêutica no intestino (meio tendencialmente básico) sem que o material e o fármaco sejam decompostos no

estômago (meio ácido). É, pois, frequente encontrar este tipo de hidrogéis como sistemas de libertação controlada de diversas substâncias em meios variados. Para este tipo de hidrogéis inteligentes, nomeadamente, os de base Poli (Ácido Acrílico), observa-se uma dissociação em solução aquosa com pH superior a 5,5, causando a repulsão electrostática da cadeia polimérica e consequentemente a sua expansão.

Para que um gel apresente características termossensíveis, um dos seus componentes tem de apresentar essa propriedade, sendo por isso insolúvel acima ou abaixo de uma determinada temperatura, ou seja apresentar uma temperatura de solução crítica inferior (LCST-*low critical solution temperature*), ou uma temperatura de solução crítica superior (UCST – *upper critical solution temperature*) (Bromberg & Ron, 1998).

Para o primeiro caso, os géis reduzem o seu volume com o aumento da temperatura, ocorrendo uma separação de fases nessa altura. Pelo contrário, os géis com UCST contraem-se com a diminuição da temperatura. A figura seguinte apresenta os diagramas de fases para sistemas com LCST e UCST.

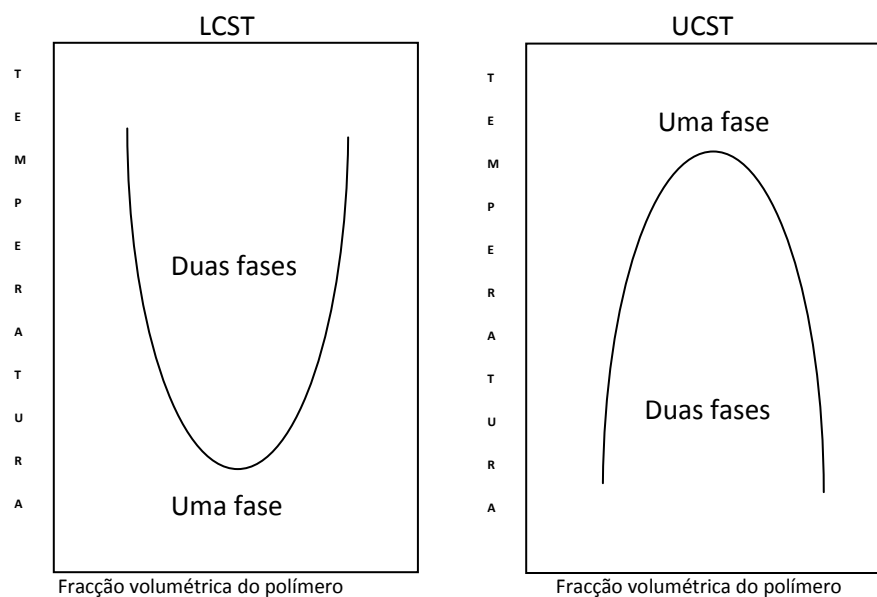


Figura 1.4 – Diagrama de fases representativo de um sistema com LCST e outro com UCST.

Para géis com comportamento de fase LCST, a temperaturas inferiores a temperatura crítica de solução apresentam apenas uma fase, sendo esta dominada pelas ligações de hidrogénio formadas pelos segmentos hidrofílicos da rede polimérica e as moléculas do solvente, nomeadamente a água. Com o aumento da temperatura, as interacções hidrofóbicas do sistema tornam-se mais fortes, acompanhadas pelo enfraquecimento das ligações de hidrogénio, originando uma contracção do gel, prevalecendo por isso as interacções polímero-polímero e solvente-solvente (Qui & Park, 2001).

O primeiro polímero descrito na literatura como apresentando características termo-reversíveis foi a Gelatina, proteína preparada por hidrólise parcial do Colagénio, contendo como principais aminoácidos a Prolina e a Glicina (Choi, *et al*, 1999). Posteriormente, foram apresentados diversos estudos sobre polissacarídeos com propriedades semelhantes, nomeadamente materiais com agarose, amilose e amilopectina. Nestes casos, verifica-se que para temperaturas elevadas, os polímeros assumem uma conformação ao acaso. Com a diminuição da temperatura, observa-se a formação das duplas e triplas hélices (para os polissacarídeos e gelatina, respectivamente), formando entre as diversas cadeias pontos de junção levando ao fenómeno de gelificação de cada composto. A figura seguinte apresenta uma esquematização do processo de formação de gel para os casos descritos.

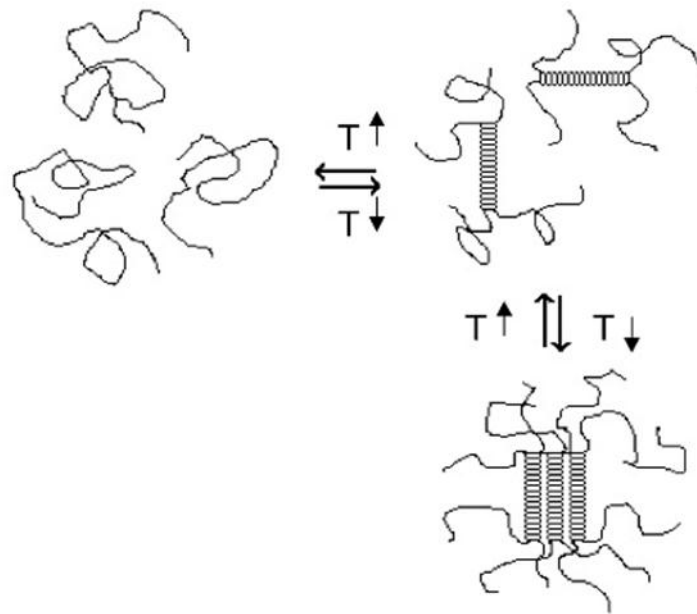


Figura 1.5 — Variação na conformação de polissacarídeos termosensíveis com a alteração da temperatura (Jeong *et al*, 2002).

A maioria dos compostos que possui temperaturas de transição de solução apresenta formação de géis com a redução da temperatura. No entanto, como referido, certos compostos apresentam o fenómeno inverso. Por exemplo, certas soluções aquosas de derivados de celulose que possuem um balanço entre grupos funcionais hidrofílicos e hidrofóbicos podem sofrer processos de gelificação a temperaturas elevadas. Para estes casos, a temperatura para a qual ocorre a transição entre solução e gel depende do grau de substituição dos grupos hidroxilo na celulose, verificando-se um aumento das interacções polímero-polímero com o aumento da temperatura. Derivados como a Metilcelulose ou a Hidroxipropilcelulose são exemplos típicos de materiais de base celulose com formação de gel a temperaturas elevadas.

Um outro exemplo é a combinação de Quitosano e Fosfato Dissódico de Glicerol. Neste caso observa-se que, para valores de pH neutro e para temperaturas

mais baixas, o polímero se encontra em solução, ocorrendo a formação de gel a uma temperatura de 37° C. Neste caso, esta temperatura de gelificação varia consoante o grau de desacetilação apresentado pelo Quitosano, não sendo, no entanto, muito influenciada pelo peso molecular do mesmo. A principal força que leva à formação do gel neste caso é a interação hidrofóbica de moléculas neutras de Quitosano, sendo aumentada com a acção estruturada do glicerol em água a temperaturas elevadas.

Todas as mudanças descritas anteriormente são reversíveis, ou seja, o gel pode repetir a transição solução/gel e gel/solução sem nenhum limite no tempo de vida do gel. Na realidade, diversos estudos têm descrito a transição de fases num gel realizada mais de 500 vezes, verificando-se uma estabilidade ao nível das propriedades do gel. Como o grau de expansão de um gel se encontra relacionado com muitas propriedades físicas do mesmo, então a variação no volume do gel como resposta a um qualquer estímulo externo provoca mudanças nessas propriedades, tais como a cinética de absorção de água, permeabilidade da rede polimérica e tamanho dos poros e conseqüente libertação de fármacos. Dado que muitas vezes algumas manifestações da doença levarem a uma alteração dos parâmetros do organismo, tais como pH, temperatura ou concentração de substâncias, este tipo de material, por possuir a capacidade de alterar a sua reacção, apresenta uma maior vantagem de aplicação do que os hidrogéis convencionais, libertando o fármaco de acordo com as flutuações metabólicas do corpo (Oh *et al*, 2004; Langer & Peppas, 2003, Zhang & Wu, 2004).

Para além da capacidade de estes géis responderem de forma distinta a estímulos externos, existem outras propriedades que favorecem o uso destes como biomateriais. Deste modo, a sua natureza elástica, semelhante à dos tecidos naturais, ou a sua biocompatibilidade, têm levado a uma maior utilização dos mesmos.

A utilização de géis termossensíveis na medicina tem sido vasta. Uma aplicação destes sistemas é na libertação de insulina em pacientes diabéticos, utilizando a degradação do sistema para permitir a libertação do composto no corpo do doente (Ratner *et al*, 1996, Kost & Langer, 2001). Um outro exemplo foi alcançado

introduzindo na matriz polimérica uma enzima, neste caso a glicose-oxidase, que, na presença de uma concentração específica de açúcar, reage formando ácido glucónico, reduzindo o pH no local onde se encontra, levando, na presença de um gel reactivo ao pH, a uma expansão deste, ocorrendo a libertação do fármaco (Ratner *et al*, 1996). Em 2005, um estudo mostrou o uso destes materiais na libertação de proteínas.

Existem diversos métodos de preparação actualmente utilizados para síntese de hidrogéis inteligentes. Neste caso, irá ser apenas utilizada uma copolimerização de enxerto para os polissacarídeos anteriormente descritos. Devido a este tipo de polimerização e a todas as variáveis envolvidas na mesma, a cinética de polimerização é bastante complexa. Em todos os sistemas de copolimerização estudados está-se em presença de um mecanismo de crescimento em cadeia radicalar. Trata-se de um mecanismo que ocorre por passos, nomeadamente, iniciação (onde ocorre a formação das espécies monoméricas propagantes), o passo de propagação, onde ocorre o crescimento da cadeia, e o passo de terminação, o passo em que as chamadas cadeias vivas (na forma radicalar) se transformam em polímero neutro, designado por polímero morto.

No caso do presente estudo, foram utilizados dois polissacarídeos e N-Isopropilacrilamida (NIPAAm), sendo que neste caso apenas o NIPAAm é um monómero, sendo os dois polissacarídeos polímeros neutros. Deste modo, estamos na presença de uma reacção de copolimerização que vai conduzir à formação de copolímeros de enxerto (“*graft*”). A cinética desta reacção é muito complexa e neste trabalho irá ser realizada uma abordagem extraordinariamente simplista que não pode ser considerada um estudo cinético com a determinação da correspondente constante cinética, mas apenas um tratamento quantitativo de resultados experimentais que irão permitir comparar a reactividade do NIPAAm relativamente a cada um dos polissacarídeos e a eficiência dos métodos de iniciação utilizados.

1.3.1. Poli (N-Isopropilacrilamida)

Dos diversos polímeros que apresentam uma transição de fases dependente da variação da temperatura, salientam-se os derivados da acrilamida (Freitas, 1986; Qiu & Park, 2001, Kost & Langer, 2001). A figura seguinte apresenta algumas estruturas destes derivados.

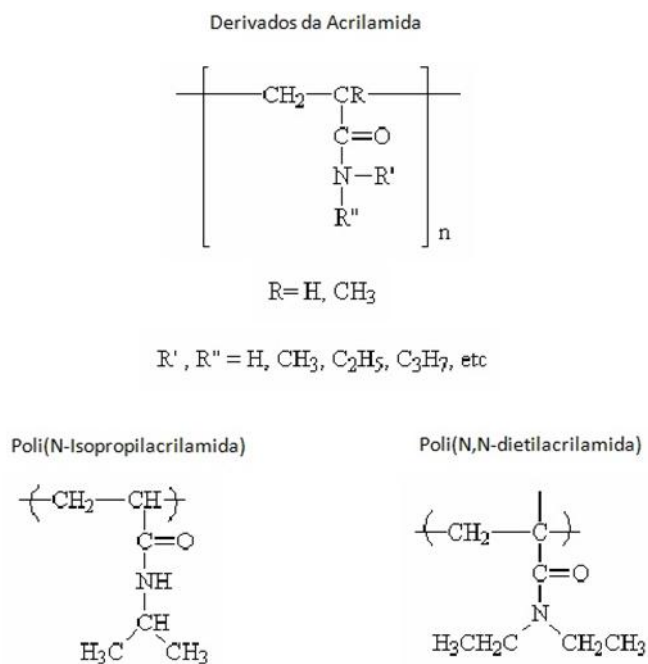


Figura 1.6 — Estrutura genérica dos derivados da Acrilamida, particularmente Poli(N-Isopropilacrilamida) e Poli (N,N – Dietilacrilamida) (Silva, 2006).

As Poli (Acrilamidas) são polímeros amorfos, solúveis na maioria dos solventes polares como a água ou soluções aquosas salinas. Têm apresentado um grande interesse em áreas tão distintas como a industrial ou agrícola, para

referenciar algumas (Silva, 2000). Dos polímeros de Acrilamida N-Substituída, a Poli(N-Isopropilacrilamida) (PNIPAAm) é provavelmente a mais estudada (Qiu & Park, 2001; Ooya *et al*, 2005, Xue *et al*, 2000).

A transição de fases da Poli (N-Isopropilacrilamida) (PNIPAAm) é o resultado do balanço entre os grupos hidrofílicos e hidrofóbicos presentes nas cadeias poliméricas. Com a redução da temperatura, o carácter hidrofílico sobrepõe-se ao hidrofóbico e vice-versa quando a temperatura aumenta (Bromberg & Ron, 1998). Com base nisso, a estrutura e propriedades da PNIPAAm podem ser alterados e modificados, bastando para isso, modificar a quantidade de grupos hidrofílicos ou hidrofóbicos na cadeia. Uma solução aquosa de PNIPAAm gelifica para temperaturas acima de 32° C. Abaixo deste valor, a entalpia, que é maioritariamente devida às ligações de hidrogénio entre os grupos polares do polímero e as moléculas de água, leva à total dissolução do polímero. Acima da LCST, a entropia, devido às interacções hidrofóbicas, domina, resultando na gelificação do polímero e na formação de duas fases distintas (Qiu & Park, 2001), ocorrendo também uma contribuição entrópica forte da perda de ligações de hidrogénio da própria água. No entanto, é de salientar que a maioria dos grupos carbonilo da PNIPAAm ainda forma ligações de hidrogénio com a água.

Actualmente, têm sido realizados diversos estudos de aplicação e caracterização de géis de base PNIPAAm para a sua aplicação como biomaterial. Alvarez-Lorenzo (Alvarez-Lorenzo, *et al*, 2005) sintetizou um hidrogel contendo Quitosano e PNIPAAm, na tentativa de introduzir uma maior biocompatibilidade do gel, mantendo, ao mesmo tempo, o seu carácter termossensível. Por outro lado, também se tentou sintetizar um gel contendo três monómeros distintos, NIPAAm, Dietil Amino Etil Metacrilato e o Butil Metacrilato para sintetizar um gel que, para além de termossensível, apresentasse características de sensibilidade ao pH e uma maior estabilidade mecânica do gel (Feil, *et al*, 1992). Por outro lado, Kurisawa (Kurisawa, *et al*, 2000) desenvolveu com sucesso um vector de base PNIPAAm para transferência genética, favorecendo a temperaturas baixas a protecção do DNA, impedindo a DNase de degradar a cadeia genética.

Na mesma área de aplicação foi efectuado também um estudo de síntese de copolímeros de Poli(Etileno glicol) e de PNIPAAm (Lin & Cheng, 2001). Outros estudos procuraram ainda verificar a compatibilidade do gel de PNIPAAm com o organismo permitindo a sua aplicação como biomaterial. Assim, foi estudada, por exemplo, a citotoxicidade destes géis em culturas de células intestinais e do pulmão, obtendo-se resultados de baixa ou nenhuma toxicidade do polímero (Vihola *et al*, 2005; Malonne *et al*, 2005).

1.4. Sistemas de Libertação Controlada

Durante muitas décadas, os suportes de administração de um fármaco para o tratamento de uma doença incluíam a toma de medicamentos sob a forma de cápsulas, comprimidos, supositórios, cremes ou colírios. Actualmente, e apesar de ainda se usarem tais formas de tratamento, a ciência farmacêutica tem tentado desenvolver outros métodos mais simples de administração de fármacos, nomeadamente, os chamados sistemas de libertação controlada. O aparecimento destes tipos de tratamentos surgiu como necessidade de haver, para o correcto tratamento de uma doença, uma concentração de um fármaco dentro de uma janela terapêutica adequada à patologia em questão. Para que tal aconteça, e aplicando os métodos tradicionais da toma de um fármaco, será necessário que o doente aplique o mesmo várias vezes ao dia. Para além do incómodo que tal provoca, a nível da concentração do fármaco no corpo, verifica-se que ocorrem flutuações significativas na concentração do fármaco ao longo do dia, observando-se, imediatamente após a toma do fármaco, um aumento significativo da concentração do fármaco para níveis superiores aos terapêuticos, inclusive para níveis tóxicos. Já passado algum tempo, observa-se a redução da concentração deste, podendo, normalmente, chegar a níveis tão baixos que são considerados ineficazes para o tratamento da doença

(Fareel & Hesketh, 2002; Kost & Langer, 2001; Ratner *et al*, 1996; Langer & Peppas, 2003). A figura seguinte traduz graficamente o que foi aqui referido.

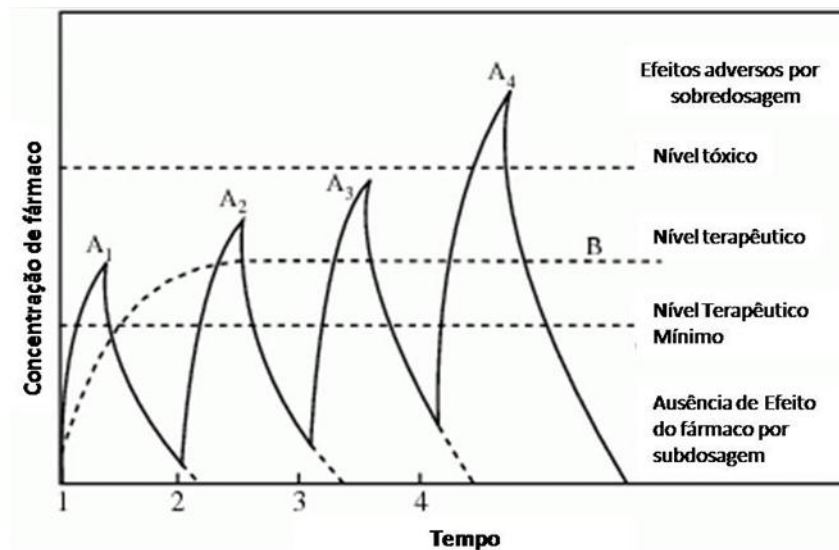


Figura 1.7 — Perfil de concentração de um fármaco após administrações sucessivas do mesmo e comparação com os níveis de tratamentos ideais para a doença [Adaptado de (Chien & Lin, 2006)].

Para evitar este tipo de perfil de concentrações, temos assistido ao desenvolvimento de diversos métodos de administração de fármaco que impeçam estas flutuações. Para tal será necessário que estes novos métodos sejam capazes de controlar a velocidade de libertação, retardando a duração da actividade terapêutica.

Para além desta vantagem, os sistemas de libertação controlada podem direccionar a libertação dos mesmos num ponto específico do organismo, servir como adjuvantes na absorção de fármacos pelas células e mucosa, proteger o agente activo em condições severas no organismo entre outras. Um dos objectivos de libertar fármacos em zonas predeterminadas é evitar reacções adversas para o caso de a mesma ser libertada num outro lugar do corpo. Por exemplo, a dissolução do

ácido acetilssalicílico e vários outros medicamentos no estômago pode causar irritação na mucosa levando a um desconforto do paciente (Farell & Hesketh, 2002).

A liberação do fármaco pode ocorrer segundo diversos métodos distintos (Ratner, *et al*, 1996, Garcia, 2002, Langer & Peppas, 2003):

- Liberação controlada por difusão;
- Liberação controlada por penetração de água;
- Liberação controlada por agentes químicos;

1.4.1. Liberação controlada de fármacos por difusão

Para este tipo de liberação são utilizados dois dispositivos distintos, nos quais a liberação do fármaco é controlada por difusão. O primeiro é o chamado dispositivo monolítico. Neste, o fármaco é disperso numa matriz polimérica e a liberação é controlada pela difusão do mesmo através da matriz. A difusão vai, pois, ser influenciada pela solubilidade do fármaco no polímero.

Um segundo dispositivo é o controlado por membranas, ou seja, o fármaco está contido num compartimento envolvido por uma membrana polimérica, porosa ou não, que controla a difusão do mesmo para o exterior. Exemplos típicos deste género de sistemas são os métodos contraceptivos por implante e transdérmicos, onde a membrana do dispositivo controla a difusão do medicamento, sendo este posteriormente distribuído pela corrente sanguínea.

1.4.2. Liberação controlada por penetração de água

O segundo tipo de controlo da libertação do fármaco é feito através da taxa de penetração de água no sistema. De forma semelhante também existem dois tipos distintos de dispositivos. Nos dispositivos do tipo bomba osmótica, o agente osmótico está contido dentro de uma câmara rígida e separada do fármaco por uma partição móvel. Um dos lados do compartimento é composto por uma membrana semipermeável. Quando o sistema é imerso num meio aquoso, a água entra no dispositivo aumentando o volume do compartimento osmótico. Este, por sua vez, exerce uma pressão sobre a parte móvel, forçando a libertação do fármaco. Este tipo de sistema tem sido utilizado em medicina para o tratamento de doenças como Parkinson, Alzheimer ou diabetes (Farell & Hesketh, 2002).

Nos dispositivos controlados pela expansão do polímero, o agente é disperso uniformemente numa matriz polimérica hidrofílica reticulada, no estado sólido. Quando esta entra em contacto com um ambiente aquoso ocorre a sua expansão. Devido à reduzida taxa de difusão dos fármacos nos polímeros secos, nenhuma libertação ocorre até que o polímero esteja em contacto com o meio aquoso (Ratner *et al*, 1996).

1.4.3. Liberação controlada por agentes químicos

Para este tipo de sistemas, a libertação do fármaco ocorre devido à degradação do polímero, no paciente. Esta degradação pode ocorrer com recurso a diversos agentes, tais como enzimas, reacções químicas ou a própria água. A libertação do fármaco de polímeros biodegradáveis pode ocorrer por três mecanismos distintos (Ratner *et al*, 1996):

No primeiro tipo, o fármaco está contido num compartimento que por sua vez se encontra envolvido por uma membrana biodegradável. A libertação do fármaco é controlada pela difusão deste através da membrana, sendo que esta só é degradada após a completa libertação do fármaco, evitando-se assim a sobredosagem do medicamento. Diversos dispositivos médicos têm por base este tipo de mecanismo, como os de libertação de hormonas durante um ano, ao passo que a membrana apenas é degradada após três anos.

O segundo tipo de mecanismo envolve um agente activo, que se liga covalentemente à cadeia do polímero, provocando a quebra das ligações entre o polímero e o fármaco. No entanto, para evitar a libertação do fármaco com fragmentos de polímero, as forças de ligação entre o polímero e o medicamento têm de ser significativamente menores do que a força de ligação entre as cadeias do polímero.

Finalmente, no terceiro tipo de mecanismo, o fármaco é disperso uniformemente num polímero biodegradável e a sua libertação ocorre por difusão, degradação ou por ambas. No primeiro, a degradação do polímero ocorre a uma taxa muito inferior à taxa de difusão do fármaco para fora da matriz. No segundo caso, ocorre o oposto, ou seja, a taxa de degradação do polímero é muito superior à difusão do fármaco neste. Assim, o fármaco é libertado ao mesmo tempo que a matriz é degradada, podendo ser controlada pelo carácter hidrofílico do polímero. Para polímeros hidrofóbicos, a taxa de penetração de água é muito inferior à de degradação da superfície, limitando assim a libertação do fármaco por degradação da superfície. Para o caso de matrizes poliméricas hidrofílicas, a degradação ocorre em toda a extensão do polímero (Ratner *et al*, 1996; Langer & Peppas, 2003).

Apesar de os sistemas de libertação de fármacos se terem tornado importantes em diferentes áreas de investigação, eles ainda não representam dispositivos ideais no tratamento de doenças, porque, embora os dispositivos consigam libertar de forma constante o fármaco, ao contrário dos métodos mais convencionais, eles ainda não conseguem interromper a libertação do fármaco uma

vez iniciada. Para tal é necessário remover cirurgicamente os mesmos, causando inconvenientes ao paciente.

1.5. Doenças Cancerígenas

O cancro engloba uma grande quantidade de doenças em que um grupo de células exhibe crescimento descontrolado, invasão tecidual loco-regional e por vezes metastização (espalha-se para outros locais do corpo por via sanguínea ou linfática).

Esta situação pode afectar virtualmente qualquer tecido ou órgão do corpo humano sendo a segunda causa de morte a nível mundial. Está estimado que a probabilidade de uma pessoa ter cancro ao longo da sua vida é de 42% (Hauser, 2005).

O tipo de cancro que mais afecta os homens é o da próstata e as mulheres é o da mama. No entanto, o tipo de cancro mais mortal em ambos os sexos é o do pulmão. A tabela seguinte resume os principais tipos de cancro para cada sexo.

Tabela 1.1 – Principais tipos de cancro por género (Jemal *et al*, 2004)

Homem			Mulher		
Local	%	Número	Local	%	Número
Pulmão e Brônquios	32	91 930	Pulmão e Brônquios	25	68 510
Próstata	10	29 900	Mama	15	40 110
Cólon e Recto	10	28 320	Cólon e Recto	10	28 410
Pâncreas	5	15 440	Ovários	6	16 090
Leucemia	5	12 990	Pâncreas	6	15 830

O factor de risco mais importante para o desenvolvimento do cancro é o aumento da idade.

Apesar destes números assustadores, nos últimos 30 anos, a incidência e a mortalidade relacionadas com o cancro têm reduzido significativamente graças a mudanças nos estilos de vida e na melhor prevenção, detecção precoce e tratamento.

A causa da maioria dos cancros permanece desconhecida, mas está relacionada com a proliferação celular aumentada (por mutações do ADN que conduzem a expressão de proto-oncogenes e/ou delecção de genes onco-suppressores). A causa das mutações parece ser multifactorial e atribuível a exposição ambiental, susceptibilidade genética, agentes infecciosos e outros (Hauser, 2005).

O cancro pode ser tratado por cirurgia, quimioterapia, radioterapia, imunoterapia ou outros métodos. A escolha terapêutica depende do tipo, da localização e do estágio da doença, assim como da condição física do doente. Actualmente existem inúmeras investigações em curso com experimentação de tratamentos inovadores (Walsh *et al*, 2000).

O objectivo do tratamento é a completa remoção do cancro sem lesar os restantes órgãos, o que várias vezes pode ser conseguido por cirurgia. No entanto, a propensão dos cancros para invadir tecidos adjacentes e para metastizar à distância, frequentemente, limita a eficácia da cirurgia. Deste modo com muita frequência é necessário recorrer a outras opções terapêuticas como a quimioterapia (Therasse *et al*, 2000).

Na quimioterapia são utilizados fármacos anticancerígenos que destroem as células cancerígenas. Estes fármacos actuam sobre células que se dividem rapidamente, pelo que não são específicos apenas para células cancerígenas e é desta característica que surgem alguns dos seus efeitos adversos (queda de cabelo, diarreia) (Grunberg & Hesketh, 1993).

Alguns dos fármacos usados em quimioterapia actuam em diferentes fases da multiplicação celular, o que permite que actuem melhor em combinação uns com

os outros. É a chamada «quimioterapia de combinação», em que são administrados *cocktails* medicamentosos de 2 ou mais fármacos (Levy, 1996).

Estas associações permitem melhorar a eficácia do tratamento, mas aumentam também os seus efeitos adversos, nomeadamente os vômitos.

Várias drogas usadas na quimioterapia têm o potencial de causar náuseas e vômitos em doentes susceptíveis, são disso exemplos a dacarbazina, a doxorubicina, a ciclofosfamida e a cisplatina.

Existem também vários fármacos que visam reduzir essa sintomatologia em doentes a fazer ciclos de quimioterapia (como a metoclopramida, ranitidina e ondansetron) e que fazem parte da medicação de escolha de qualquer oncologista ou de outro médico especialista que acompanhe estes doentes.

1.6. Ondansetron®

O Ondansetron® foi desenvolvido em 1984 por cientistas da companhia farmacêutica GlaxoSmithKline, em Londres, podendo ser incluído na família dos compostos heterocíclicos e tendo como nome químico 9-Metil-3-((2-Metil-1H-Imidazol-1-il)Metil)-2,3-Dihidro-1H-Carbazol-4(9H). A figura seguinte apresenta a estrutura química do fármaco (Roila & Del Favero, 1995).

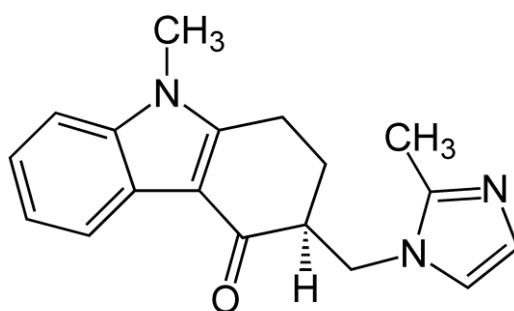


Figura 1.8 — Estrutura química do Ondansetron® (Deegan, 1992).

Constituí um antagonista altamente selectivo dos receptores 5HT₃. Este tipo de fármacos é largamente utilizado quer nas náuseas que são efeito secundário dos tratamentos de quimioterapia quer nas náuseas pós-operatórias devidas à anestesia aplicada. Actuam maioritariamente sobre ambos os sistemas nervosos, central e periférico, sendo que uma parte da sua acção consiste na redução da actividade do nervo pneumogástrico, que é o responsável pela activação do vômito. A outra parte da sua acção é o bloqueio dos receptores de serotonina (Deegan, 1992; Roila *et al*, 1997). A sua posologia normal neste tipo de tratamentos é a administração intravenosa cerca de 30 minutos antes do início do tratamento. Pode também ser utilizado como fármaco no tratamento das náuseas causadas por doenças do foro gástrico, como a gastroenterite. O número de tomas diárias varia consoante a gravidade das náuseas apresentadas, mas, por norma, é aconselhada a toma diária de 1 a 3 comprimidos de 8 mg, para adultos e crianças com mais de 12 anos. A sua eliminação ocorre por via hepática e por via renal.

Considerando a forma mais usual do tratamento, a toma oral de um comprimido antes das refeições, e devido aos efeitos secundários do tratamento que fazem com que muitas vezes os pacientes não sintam o efeito positivo do

Ondansetron®, porque acabam por vomitar o comprimido antes que faça efeito, tem-se tentado encontrar, nos últimos tempos, uma forma de administração do fármaco sem que ocorra a possibilidade de este ser vomitado, nomeadamente, através de doses intravenosas de uma solução do mesmo. No entanto, no dia-a-dia, é impossível, quer para o hospital quer para o próprio paciente, recorrer a este tipo de terapêutica pelo que se tem estudado a possibilidade de incorporar este tipo de fármaco num gel tipo *patch* para que este seja libertado de forma controlada sem que ocorra a sua emese.

Bibliografia

Agnihotri, S. A., *et al*, "Recent advances on chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery", *Journal of Controlled Release*, 2004, 100, 5-28.

Ahn, J-S, *et al*, "A novel mucoadhesive polymer prepared by template polymerization of acrylic acid in the presence of chitosan", *Biomaterials*, 2001, 22, 923-928.

Almeida, J. F., *et al*, "Immobilization of Drugs for Glaucoma Treatment", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2007, 18(12), 2309-2317.

Berger, J., *et al*, "Pseudo-thermosetting chitosan hydrogels for biomedical application", *International Journal of Pharmaceutics*, 2005, 288(1), 17-25.

Berscht, P. C., *et al*, "Incorporation of basic fibroblast growth factor into methylpyrrolidinone chitosan fleeces and determination of the in vitro release characteristics", *Biomaterials*, 1994, 15, 593-600.

Bos, G. W., *et al*, "Tissue Reactions of in situ formed dextran hydrogels crosslinked by stereocomplex formation after subcutaneous implantation in rats", *Biomaterials*, 2005, 26(18), 3901-3909.

Bromberg, L. E., Ron, E. S., "Temperature-Responsive Gels and Thermogelling Polymer Matrices for Protein and Peptide Delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1998, 31, 197-221.

Cadée, J. A., *et al*, "In vivo biocompatibility of dextran-based hydrogels", *Journal of Biomedical Materials Research*, 2000, 50(3), 397-404.

Casimiro, M. H., *et al*, "Characterisation of gamma irradiated chitosan/pHEMA membranes for biomedical purposes", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2005, 236, 482-487.

Can, H. K., *et al*, "Effect of functional crosslinking agents on preparation and swelling properties of dextran hydrogels", *Carbohydrate Polymers*, 2005(1), 51-56.

Chien, Y.W., Lin, S., "Drug Delivery: Controlled Release", *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Informa Healthcare, 2006, 3rd Edition, NY.

Choi, Y. S., *et al*, "Studies on Gelatin-Containing Artificial Skin", *John Wiley and Sons*, 1999, 631-639.

Deegan, R., "Ondansetron: Pharmacology of a Specific 5HT₃-Receptor Antagonist", *The American Journal of the Medical Sciences*, 1992, 304 (6), 373-378.

Dumitriu, S., Vidal, P.F., Chornet, E., "Polysaccharides in medicinal applications", Dumitriu, S., Ed; Marcel Dekker, 1996, 22, 511-521.

Dusek, K., "Advances in Polymer Science. Responsive Gels: Volume transition I", Springer-Verlag, 1993.

Edman, P. *et al*, "Immobilization of proteins in microspheres of biodegradable polyacyldextran", *Journal of Pharmaceutical Science*, 1980, 69(7), 838-842.

Farell, S., Hesketh, R.P. "An Introduction to Drug Delivery for Chemical Engineers", *Chemical Engineering Education*, 2002.

Feil, H. *et al*, "Mutual Influence of pH and Temperature on the swelling of Ionizable and Thermosensitive Hydrogels", *Macromolecules*, 1992, 25, 5528-5530.

Ferreira, P., *et al*, "Thermal Characterization of Chitosan-Grafted Membranes to be Used as Wound Dressings", *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2006, 25, 233-251.

Freitas, R. F. S., "Extractions with and Phase Behaviour of Temperature-Sensitive Gels", Tese de doutoramento, University of Minnesota, USA, 1986.

Garcia, J. L. L., "Nuevos sistemas orales de liberacion modificada", *Schironia*, 2002, 1, 63-71.

Genta, I., *et al*, "Spray-drying for the preparation of chitosan microspheres", *Proc. Int. Symp., Controlled Release Bioact. Mater.*, 1994, 21, 616-617.

Grunberg S.M., Hesketh, P. J., "Control of Chemotherapy-induced emesis", *National English Journal of Medicine*, 1993, 329, 1790.

Hennink, W.E., Nostrum, C.F., "Novel crosslinking methods to design hydrogels", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, 54, 13-36.

Hennink, W. E., *et al*, "Dextran Hydrogels for the Controlled Release of Proteins", *Journal of Controlled Release*, 1997, 48(2), 107-114.

Hoffman, A. S., "Applications of Thermally Reversible Polymer and Hydrogels in Therapeutics and Diagnostics", *Journal of Controlled Release*, 1987, 6, 297-305.

Hoffman, Allan S., "Hydrogels for Biomedical Applications", *Advance Drug Delivery Reviews*, 2002, 43, 3-12.

Hauser, K., *et al*, "Harrisons's principles of Internal Medicine", 16th Edition, Mc Graw-Hill, New York, 2005.

Ikram, S., *et al*, "Thermosensitive membranes by radiation-induced graft polymerization of *N*-Isopropyl acrylamide/acrylic acid on polypropylene nonwoven fabric", *Radiation Physics and Chemistry*, 2011, 80, 50-56.

Imren, Dilek, *et al*, " Synthesis and Characterization of Dextran Hydrogels Prepared with Chlor- and Nitrogen-Containing Crosslinkers", *Journal of Applied Polymer Scienc*, 2006, 102, 4213-4221.

Irie, M., "Stimuli-Responsive Poly(N-Isopropylacrylamide), Photo- and Chemical Induced Phase Transitions", *Advances in Polymer Science. Responsive Gels: Volume Transitions II*, Springer-Verlag, 1993, 49.

Jemal, A., *et al*, "Cancer Statics", *CA Cancer Journal clinics*, 2004, 54, 8.

Jeong, B., *et al*, "Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, 54, 37-51.

Kost, J., Langer, R. "Responsive Polymeric Delivery Systems", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, 46, 125-148.

Kumar, R., *et al*,"Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives", *Chemical Reviews*, 2004, 104, 6017-6084.

Kurisawa, M., yokoyama, M., Okano, T.,"Transfection efficiency increases by incorporation hydrophobic monomer units into polymeric gene carriers", *Journal of Controlled Release*, 2000, 68, 1-8.

Langer, R., Peppas, N.A., "Advances in Biomaterials, Drug Delivery, and Bionanotechnology", *AIChE Journal*,2003, 49, 2990-3006.

Lee, J.W., *et al*, "Synthesis and characterization of thermosensitive chitosan copolymer as a novel biomaterial", *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 2004, 15(8), 1065-1079.

Lee, K.Y., Mooney, D.J., *Chemical Reviews*, 2001, 101, 1869-1879.

Levy, M. H., "Pharmacologic Treatment of Cancer Pain", *National English Journal of Medicine*, 1996, 335, 1124.

Lim, F., Sun, A. M., "Microencapsulated Islets as Bioartificial Pancreas", *Science*, 1980, 210, 908-910.

Lin, H.H., Cheng Y.L., "In-situ thermoreversible gelation of block and star copolymers of poly(ethylene glycol) and poly(N-Isopropylacrylamide) of varying architectudes", *Macromolecules*, 2001, 34, 3710-3715.

Lloyd, L.L., *et al*,"Carbohydrate polymers as wound managements aids", *Carbohydrate Polymers*, 1998, 37, 315-322.

Lu, Diannan, *et al*, "Dextran-grafted-PNIPAAm as an artificial chaperone for protein refolding", *Biochemical Engineering Journal*, 2006, 27, 336-343.

Malonne, H., *et al*, "Preparation of Poly(N-Isopropylacrylamide) copolymers and preliminary assessment of their acute and subacute toxicity in mice", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2005, 61, 188-194.

Martinez-Huitle, C.A., "Determination of trace metals by Differential Pulse Voltammetry at Chitosan Modified Electrodes", *Portuguese Electrochemical Acta*, 2010, 28, 1.

Mochalova, A.E., *et al*, "Graft Polymerization of Acrylamide on Chitosan: Copolymer Structure and Properties", *Polymer Science Series A*, 2006, 48(9), 918-923.

Nicol, S., "Life after death for empty shells", *New Science*, 1991, 129, 46-48.

Oh, K. S., *et al*, "Hydrogen-bonded Polymer Gel and its Application as a Temperature-sensitive Drug Delivery System", *Biomaterials*, 2004, 25, 2393-2398.

Ooya, T., *et al*, "Temperature-Controlled Erosion of Poly(N-isopropylacrylamide)-based Hydrogels Crosslinked by Methacrylate-introduced Hydrolyzable Polyrotaxane", *Science and Technology of Advanced Materials*, 2005, 6, 447-451.

Park, K., "Biodegradable Hydrogels for Drug Delivery", *Purdue University Publishing Co*, 1993

Peppas, N.A., *et al*, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2000, 50, 27-46.

Peppas, N.A., "Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine", Academic Press, 1996, 60-64.

Qiu, Y., Park, K., "Environment Sensitive Hydrogels for Drug Delivery Systems", *Advance Drug Delivery Reviews*, 2001, 53, 321-339.

Ratner, B.D., *et al*, "Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine", Academic Press, 1996.

Rinaudo, M. "Chitin and Chitosan: Properties and applications", *Progress in Polymer Science*, 2006, 31, 603-632.

Roila, F., Del Favero, A. "Ondansetron Clinical Pharmacokinetics", *Clinical Pharmacokinet*, 1995, 29(2), 95-109.

Roila, F., *et al*, "5-HT₃ Receptor Antagonists: Differences and Similarities", *European Journal of Cancer*, 1997, 33(9), 1364-1370.

Rudall, K.M., Kenchington W., "The chitin systems", *Biol Rev*, 1973, 40, 597-636.

Silva, M. E. S. R., "Estudo Térmico e Microestrutural de Poliacrilamidas e de suas Blendas com Polietilenoglicol", Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte, MG, Brasil, 2000.

Therasse P, *et al*, "New guidelines to evaluate response to treatment in solid tumors", *Journal of National Cancer Institute*, 2000, 95, 205.

Torres-Lugo, M., Peppas, N.A., *Macromolecules*, 1999, 32, 6646.

Van Dijk-Wolthuis, *et al*, *Macromolecules*, 1995, 48, 107.

Van Tomme, S.R., Hennink, W.E., "Biodegradable dextran hydrogels for protein delivery applications", *Expert Review of Medical Devices*, 2007, 4(2), 147-164.

Vihola, H., *et al*, "Cytotoxicity of Thermosensitive Polymers poly(N-Isopropylacrylamide), poly(N-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified poly(N-vinylcaprolactam)", *Biomaterials*, 2005, 26, 3055-3064.

Walsh D., *et al*, "The symptoms of advanced cancer: Relationship to age, gender, and performance status in 1000 patients", *Support Care Cancer*, 2000, 8, 175.

Walker, G. J., *International Review of Biochemistry, Biochemistry of Carbohydrates II*, vol 16, University Park Press, Baltimore, 1978.

Wichterle, O., Lim, D. "Hydrophilic Gels in Biologic Use", *Nature*, 1960, 185, 117.

Won, C.Y., Chu, C.C., "Synthesis and characterization of biodegradable network hydrogels having both hydrophobic and hydrophilic components with controlled swelling behaviour", *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 1999, 37, 4554-4569.

Wu, J.Y., *et al*, "Evaluating Proteins Release from, and their interactions with, Thermosensitive poly(N-Isopropylacrylamide) Hydrogels", *Journal of Controlled Release*, 2005, 102, 361-372.

Xue, W, *et al*, "Observations on some Copolymerisations Involving N-isopropylacrylamide", *Polymer*, 2000, 41, 7575-7581.

Yannas, I.V., Lee, E., Orgill, D.P., "Synthesis and Characterization of a model Extracellular Matrix that Induces Partial Regeneration of Adult Mammalian Skin", *Proceedings of the National Academy of Science*, 1989, 86, 933-937.

Yao, K., *et al*, "Microcapsules/microspheres related to chitosan", *Reviews in Macromolecule Chemical Physics*, 1993, C35(1), 155-180.

Zhang, K., Wu, X. Y., "Temperature and pH-responsive Polymeric Composite membranes for Controlled Delivery of Proteins and Peptides", *Biomaterials*, 2004, 25, 5281-5291.

Materiais e Métodos

2. Introdução	41
2.1. REAGENTES	41
2.2. PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE DEXTRANO E QUITOSANO	42
2.2.1. Preparação da solução de Dextrano	43
2.2.2. Preparação da solução de Quitosano	43
2.3. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	44
2.3.1. Análise Elementar	44
2.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	44
2.3.3. Ressonância Magnética Nuclear do Protão (¹ H-RMN)	45
2.3.4. Avaliação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)	45
2.3.5. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água	46
2.3.6. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície	47

2.3.7. Avaliação do padrão de liberação do fármaco	48
2.3.7.1. Preparação da solução de tampão fosfato	48
2.3.7.2. Determinação da curva padrão do fármaco	49
2.3.7.3. Ensaio de liberação	49
BIBLIOGRAFIA	50

2. Introdução

Ao longo deste trabalho, foram sintetizados géis de base quitosano e dextrano, com a introdução de N-Isopropilacrilamida na estrutura de cada um dos polissacarídeos, usando para tal diferentes técnicas de co-polimerização de enxerto. Para permitir uma melhor compreensão dos resultados obtidos para cada uma das diferentes metodologias de modificação utilizadas, e a distinção das mesmas, o procedimento experimental de cada uma será apresentado no respectivo capítulo. No presente capítulo irá ser apresentada uma breve descrição dos reagentes e das técnicas de caracterização utilizadas e simultaneamente comuns aos diferentes métodos descritos nos capítulos 3 a 5.

2.1. Reagentes

Os diferentes reagentes utilizados na realização do trabalho experimental foram adquiridos a distintas empresas fornecedoras. De seguida, é apresentada uma lista com todos os materiais utilizados e respectivos fornecedores.

O Dextrano, utilizado em todos os ensaios, foi adquirido à companhia Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) com um peso molecular compreendido entre 5000000 e os 40000000. O Quitosano foi adquirido à mesma empresa, apresentando um peso molecular médio na gama de 190000 – 310000 e com um grau de desacetilação compreendido entre 75-85%. Ambos os polissacarídeos foram utilizados como apresentados na embalagem, não tendo sido alvo de qualquer tratamento ou purificação prévios. A N-Isopropilacrilamida, proveniente igualmente da Sigma,

apresentava um grau de pureza de 97%, tendo sido usada tal qual como foi recebida. Para a preparação da solução de Quitosano, foi necessário preparar uma solução aquosa de Ácido Acético a 5% (v/v). Para tal, utilizou-se uma solução de Ácido Acético com grau de pureza de 99,5%, pH 2,4, adquirido à BHD-Chemical, Lda (Poole, UK).

Na preparação da solução de Tampão Fosfato (PBS) foram utilizados Cloreto de Sódio (NaCl), Cloreto de Potássio (KCl), di-Hidrogenofosfato de Potássio (KH₂PO₄) e Hidrogenofosfato de Sódio Dodecahidratado (Na₂HPO₄.12H₂O) reagentes adquiridos à companhia Merck (Darmstadt, Alemanha), apresentando todos graus de pureza de 99,5%.

Como fármaco, foi utilizado o Ondansetron[®], gentilmente fornecido pelo serviço de farmácia hospitalar do Hospital Garcia de Orta, em Almada. Cada ampola continha 4 mL de uma solução de fármaco de 2 mg/mL, contendo ainda como excipientes Ácido Cítrico mono-hidratado, Cloreto de Sódio, Citrato de Sódio e Água para preparações injectáveis.

2.2. Preparação das soluções de Dextrano e Quitosano

A preparação das soluções de ambos os polissacarídeos foi efectuada de forma idêntica para qualquer tipo de reacção efectuada. Seguidamente encontra-se descrito o procedimento efectuada para a preparação de cada uma das diferentes soluções.

2.2.1. Preparação da solução de Dextrano

Para a preparação da solução de Dextrano, foram dissolvidos 1 g do polissacarídeo em 50 mL de água destilada sob agitação magnética e à temperatura ambiente. O processo de dissolução foi levado a cabo ao longo de 24 horas, permitindo deste modo a completa dissolução do material. Cada solução foi preparada previamente à sua utilização não tendo sido armazenada posteriormente.

2.2.2. Preparação da solução de Quitosano

Para a preparação da solução de Quitosano foi utilizado um procedimento distinto do realizado para o Dextrano em virtude dos problemas de dissolução do Quitosano em água destilada. Deste modo, foi necessário preparar inicialmente 150 mL de uma solução de 5% de Ácido Acético (v/v), recorrendo a uma solução mais concentrada do mesmo. A solução obtida apresentava um pH aproximadamente de 3,3. Seguidamente, adicionaram-se 2 g de Quitosano à solução, deixando a mistura em agitação durante 24 horas à temperatura ambiente, permitindo a dissolução completa do Quitosano. Tal como no Dextrano, também esta solução foi preparada e utilizada imediatamente não tendo sido armazenada posteriormente.

2.3. Técnicas de caracterização

Ao longo do trabalho experimental, foram utilizadas diversas técnicas para melhor identificar e caracterizar todos os géis sintetizados. Nesta secção irá ser efectuada uma descrição dos procedimentos efectuados para todas elas.

2.3.1. Análise elementar

Para a realização dos ensaios de análise elementar, todas as amostras sintetizadas foram previamente secas e liofilizadas, sendo posteriormente analisadas em relação à composição dos diversos elementos constituintes, nomeadamente, N, O, C e H, sendo esta dada em percentagem. Todos os ensaios foram realizados num *Fisions Instruments EA-1108*.

2.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)

Todas as análises de Espectroscopia do Infravermelho (FTIR-ATR) foram efectuadas com recurso a um espectrofotómetro *Magma-IR™ Spectrometer 750* da

Nicolet Instrument Corporation, tendo os espectros sido realizados a 128 scans, com uma resolução de 4 cm^{-1} .

2.3.3. Ressonância Magnética Nuclear do Protão (^1H -RMN)

Para a realização dos ensaios de Ressonância Magnética Nuclear do Protão, ^1H -RMN, todas as amostras foram solubilizadas, durante 24 horas, em Óxido de Deutério (D_2O) adquirido à Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Posteriormente, foram introduzidas em tubos de RMN próprios e os espectros adquiridos num *Avance 400 MHz Spectrometer* da *Brucker*. Cada espectro foi obtido com 32 scans, recorrendo a um pulso de 90° com um período de relaxação de 30 segundos. Em todos os espectros foi usado, como referência, o sinal da água a δ 4,75 ppm, tendo este sido parcialmente eliminado por irradiação da amostra durante o período de relaxação.

2.3.4. Avaliação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)

Para avaliar correctamente o valor da Temperatura de solução crítica inferior característica de cada amostra, foi efectuado um estudo através de uma espectroscopia UV-Vis, com recurso a um espectrofotómetro *Jasco V-530*. Cada amostra, após a sua síntese, foi colocada inicialmente a 25°C , tendo sido medido e registado o valor da absorvância por ela apresentada no respectivo espectrofotómetro a comprimento de onda de 500nm (Lu *et al*, 2006; Liu *et al*, 2004).

Seguidamente, cada gel foi aquecido 1°C numa estufa, tendo cada amostra permanecido cerca de 30 minutos a essa temperatura antes de ser efectuada nova leitura do valor de absorvância. Este procedimento descrito foi realizado até a temperatura ter atingido os 40°C. Os valores registados foram então tratados, tendo-se determinado o valor da Temperatura Crítica correspondendo à temperatura onde o gráfico Absorvância vs Temperatura apresenta o respectivo ponto de inflexão.

2.3.5. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água

Para a determinação da capacidade de absorção de água de cada gel sintetizado todas as amostras foram secas à temperatura ambiente e, posteriormente, numa estufa a vácuo, a 40°C, até apresentarem peso constante, tendo este sido registado e denominado «peso seco» (W_s).

Seguidamente, cada amostra foi colocada num recipiente fechado, contendo no seu interior uma solução saturada de Sulfato de Cobre Pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), apresentando uma humidade relativa de 95% aproximadamente. A evolução do peso da amostra foi avaliada, tendo para tal sido determinado em intervalos de tempo regulares o peso de cada gel até este apresentar um valor constante.

Seguidamente, cada amostra foi colocada fora do recipiente fechado, permitindo a libertação da água do seu interior. Inicialmente este valor foi registado de 30 em 30 segundos até ao total de 10 minutos, tendo, posteriormente prosseguido a avaliação da variação do peso com intervalos de tempos maiores. A evolução do peso foi verificada até que este tivesse atingido um valor constante. A capacidade de absorção de água foi determinada com recurso à seguinte equação:

$$\text{capacidade de inchaço} = \frac{W_m - W_s}{W_s} \times 100 \quad (2.1)$$

Em que

W_s — é o peso seco de cada amostra e

W_m — é o peso molhado, determinado através de extrapolação do gráfico obtido da perda de peso ao longo do tempo, nos primeiros 10 minutos.

Esta análise foi efectuada a duas temperaturas distintas: 25°C e 37°C, respectivamente.

2.3.6. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície

Para a determinação do valor do ângulo de contacto de cada amostra foi necessário preparar uma superfície plana e lisa onde pudessem ser efectuados os ensaios. Para tal, foram colocadas soluções de cada amostra em caixas de Petri, deixando-se evaporar o solvente até se obter um filme liso.

Seguidamente, cada amostra foi colocada num *DAS 1* da *Kruss*, onde se procedeu à avaliação do respectivo ângulo de contacto, com recurso à água como solvente, utilizando o método *Sessile & Captive Drop*.

Para a determinação da energia de superfície, usaram-se quatro solventes distintos: água, formamida, etilenoglicol e propilenoglicol. Foram efectuadas diversas

medidas em todo o gel para a determinação do valor dos ângulos de contacto estático médio e o respectivo desvio-padrão apresentado para cada solvente. As duas componentes das energias de superfície, dispersiva γ_s^D e polar γ_s^P foram determinadas pela relação Owens-Wendt-Rabel e Kaelble (Owens & Wendt, 1969).

2.3.7. Avaliação do padrão de libertação do fármaco

A determinação do perfil de libertação do fármaco e da quantidade libertada foi efectuada com recurso à técnica de espectroscopia de ultravioleta e visível, utilizando para o efeito um espectrofotómetro de feixo duplo *Cary 3E* da *Varian*. A análise foi efectuada em diversas etapas que seguidamente serão descritas.

2.3.7.1. Preparação da Solução de Tampão Fosfato

Para a preparação da Solução de Tampão Fosfato (PBS) foram dissolvidos 40 g de Cloreto Sódio (NaCl), 1 g de Cloreto de Potássio (KCl), 1 g de di-Hidrogenofosfato de Potássio (KH_2PO_4) e 11,6 g de Hidrogenofosfato de Sódio dodecahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) em 5 l de água destilada.

2.3.7.2. Determinação da curva padrão do fármaco

Inicialmente foi efectuada uma análise à solução-padrão de fármaco tal como apresentado nas ampolas fornecidas, efectuando um varrimento do espectro da luz ultravioleta em 1 μ de comprimentos de onda de 200-400 nm, de forma a detectar qual o valor máximo para a absorvância do fármaco.

Seguidamente, foram efectuadas diluições com solução de tampão fosfato, à solução inicial do fármaco, obtendo-se soluções de concentração conhecida, de modo a correlacionar os valores de absorvância com os de concentração de fármaco em solução.

2.3.7.3. Ensaio de libertação

Após a determinação da curva-padrão do fármaco, cada amostra foi colocada dentro de membranas de diálise (12-14 kD, Spectrum), de forma a evitar que a possível degradação dos géis interferisse com a leitura do valor da quantidade de fármaco libertado para a solução.

Seguidamente, cada gel foi colocado num Erlenmeyer, contendo 100 mL de solução de PBS, com agitação magnética suave por forma a permitir uma melhor circulação e homogeneidade do meio. Amostras de 3 mL foram retiradas em tempos diferentes (crescentes) para leitura no espectrofotómetro no comprimento de onda correspondente ao máximo de absorvância previamente determinado. O volume de solução retirada para a análise foi então novamente introduzido no sistema para não alterar as condições de difusão do fármaco. Estes ensaios foram realizados a duas temperaturas distintas: 25°C e 37°C.

Bibliografia

Liu, Wenguang, *et al*, "A rapid temperature-responsive sol-gel reversible poly(N-isopropylacrylamide)-*g*-methylcellulose copolymer hydrogel", *Biomaterials*, 2004, 25, 3005-3012.

Lu, Diannan, *et al*, "Dextran-grafted-PNIPAAm as an artificial chaperone for protein refolding", *Biochemical Engineering Journal*, 2006, 27, 336-343.

Owens, D.K., Wendt, R.C., "Estimation of the surface free energy of polymers", *Journal of Applied Polymer Science*, 1969, 13(8), 1741-1747.

Hidrogéis Preparados por Irradiação Gama

3. Hidrogéis Preparados por Irradiação Gama	53
3.1. INTRODUÇÃO	53
3.2. PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS	56
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
3.3.1. Análise elementar	60
3.3.1.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	60
3.3.1.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	63
3.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	68
3.3.2.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	69
3.3.2.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	73
3.3.3. Ressonância Magnética Nuclear do Protão (^1H -RMN)	75
3.3.3.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	78
3.3.3.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	81
3.3.4. Determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)	84

3.3.4.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	84
3.3.4.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	87
3.3.5. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água	90
3.3.5.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	90
3.3.5.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	101
3.3.6. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície	110
3.3.6.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	113
3.3.6.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	117
3.3.7. Avaliação do padrão de libertação do fármaco	121
3.3.7.1. <i>Sistemas de base Dextrano</i>	125
3.3.7.2. <i>Sistemas de base Quitosano</i>	135
3.4. CONCLUSÕES	142
BIBLIOGRAFIA	145

3. Hidrogéis preparados por Irradiação Gama

Neste capítulo serão apresentados a teoria, a experimentação, os resultados, as conclusões e a bibliografia referentes às reacções cuja iniciação de copolimerização foi efectuada recorrendo a irradiação γ .

3.1. Introdução

Desde o início da preparação de biomateriais de origem polimérica, a comunidade científica debateu-se com o problema decorrente do uso de iniciadores químicos nas suas reacções e a consequente toxicidade dos mesmos. Este problema foi o ponto de partida para a pesquisa de novas formas de reacção consideradas «mais limpas», ou seja, sem problemas a nível de toxicidade, mas que, ao mesmo tempo, conseguissem produzir materiais comparativamente semelhantes aos conseguidos por métodos anteriormente testados.

Foi neste âmbito que surgiu a utilização da radiação de alta energia na preparação de biomateriais. As radiações de alta energia, tais como a radiação γ ou os raios-X são exemplos de tipos de radiação actualmente usada para este fim.

O espectro da luz compreende diversos tipos de radiação, apresentando cada um deles determinado comprimento de onda e energias associadas. Inicialmente, eram apenas conhecidas as radiações visível (Vis), cuja existência foi reconhecida por Newton em 1666, infravermelha (IV), descoberta por Sir William Herschel em 1800 e associada à temperatura, e ultravioleta (UV), descoberta por Johann Wilhelm Ritter e associada aos materiais fluorescentes e fosforescentes.

Apenas já no séc. XX seria reconhecida a existência de um maior número de radiações, constituindo o espectro da luz. A figura seguinte apresenta o espectro da luz e os diversos tipos de radiações que a constituem.

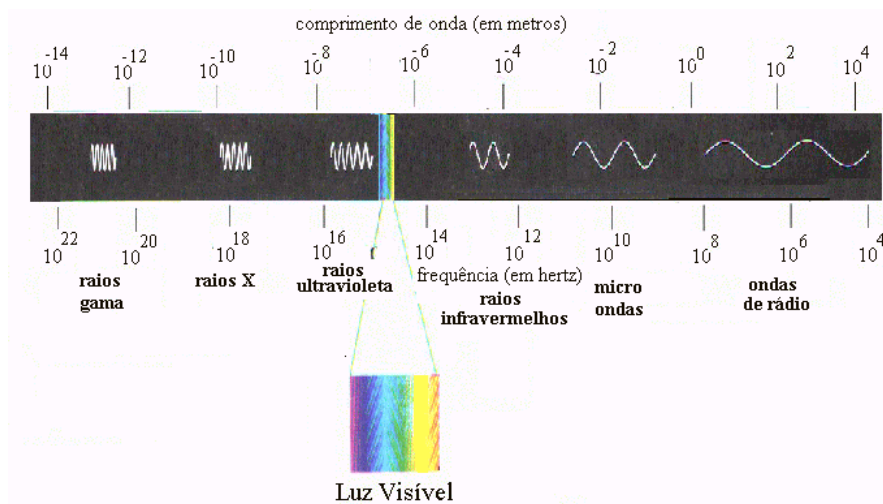


Figura 3.1 — Espectro da luz (Gil, 1996).

Os raios γ foram descobertos no início do séc. XX, em 1900, por Paul-Ulrich Villard e posteriormente estudados por Marie e Pierre Curie. Ao contrário de outros tipos de radiação, como a alfa ou a beta, os raios γ propagam-se como uma onda electromagnética ao invés de se propagar através de partículas. Para além disso, não apresentam qualquer tipo de carga eléctrica (L'Annunziata, 2007). São semelhantes aos raios-X, apresentando, no entanto, comprimentos de onda ainda mais pequenos, normalmente em gamas inferiores a 10^{-9} m. Os raios γ utilizáveis em laboratório são produzidos geralmente após uma reacção de decaimento nuclear. Em diferentes elementos, após reacções deste tipo, o núcleo permanece num estado de energia superior ao fundamental, ocorrendo então a libertação dessa energia em excesso através de radiação electromagnética, a radiação γ (Shaw *et al*, 1999). Este factor é o que distingue os raios-x dos raios γ , isto é, os primeiros têm origem electrónica enquanto os segundos têm origem nuclear (Croonenborghs *et al*, 2007). Desta forma, isótopos instáveis são as fontes primordiais deste tipo específico de radiação. Industrialmente, existem vários isótopos a serem utilizados como fonte de radiação γ , nomeadamente o Cobalto 60, o Irídio 192, o Césio 137 e o Túlio 170.

Ao contrário dos raios-X, onde é possível gerar no mesmo equipamento ondas electromagnéticas de diferentes comprimentos de onda, os raios γ apresentam um comprimento de onda fixo, associado ao tipo de fonte emissora. Para além disso, a fonte de radiação γ emite este tipo de radiação de forma contínua, sendo necessário equipamento específico de protecção, ao contrário das fontes de raios-X, que emitem radiação apenas quando os aparelhos se encontram ligados.

O comprimento de onda encontra-se relacionado à frequência e à energia associada a cada radiação, sendo inversamente proporcional às mesmas. Deste modo, facilmente se compreende que as radiações γ , devido ao seu baixo comprimento de onda, apresentam frequência e energia elevadas. São estas duas propriedades que conferem à radiação γ características muito importantes para a sua utilização (Kurika, 1996). De facto, por apresentarem comprimentos de onda reduzidos, estas possuem um poder de penetração bastante elevado, enquanto as suas elevadas energias permitem a formação de radicais nas ligações duplas de compostos insaturados, como os monómeros, ou ainda a formação de radicais em certos grupos constituintes das moléculas, tais como os grupos hidroxilo (Rosiak, *et al*, 1995; Rosiak & Yoshii, 1999; Schmidt *et al*, 2003).

Por permitir polimerizações sem qualquer introdução de iniciadores, esta técnica de polimerização é chamada «química limpa», constituindo precisamente esse facto a sua principal vantagem (Casimiro *et al*, 2005; Casimiro *et al*, 2005; Garnett, 1979).

Para além disso, o facto de, enquanto a reacção ocorre, o material final ser esterilizado faz com que este tipo de reacções esteja cada vez mais a ser utilizado na síntese de materiais para aplicação biomédica (Biswal *et al*, 2007; Chen *et al*, 2007).

3.2. Preparação dos hidrogéis

Para a preparação dos copolímeros, prepararam-se as soluções de Dextrano e de Quitosano, tal como descrito no Capítulo 2. Após a sua preparação, dissolveu-se 1 g de N-Isopropilacrilamida na solução, procedendo-se à sua homogeneização com recurso à agitação magnética. Posteriormente, cada solução foi transferida para um recipiente de poliamida Amilon®, próprio para os ensaios de radiação γ .

Seguidamente cada amostra foi submetida a uma atmosfera de Azoto por forma a retirar todo o oxigénio presente. Todas as amostras foram então colocadas paralelamente à fonte de radiação, neste caso o ^{60}Co , e sujeitas a radiação durante diferentes tempos, tal como se indica na tabela seguinte.

Tabela 3.I — Tempos de reacção utilizados para irradiar os diferentes sistemas.

Sistema	Dextrano (g)	Quitosano (g)	Tempo de irradiação (h)
1	1		1
2	1		2
3	1		3
4	1		4
5	1		5
6		1	1
7		1	2
8		1	3
9		1	4
10		1	5

A dosagem utilizada para os ensaios foi de 5 kGy, a uma velocidade de irradiação de $0,6 \text{ kGy}\cdot\text{h}^{-1}$. Para além dos sistemas indicados na tabela anterior, foram ainda efectuados testes com os polissacarídeos e o monómero isoladamente. Deste

modo, procedeu-se à irradiação de amostras de Dextrano, Quitosano, e NIPAAm, isoladamente, submetendo-as a irradiação por um período de 5 horas.

3.3. Resultados e discussão

A figura seguinte mostra as amostras nos respectivos recipientes após a irradiação das mesmas.

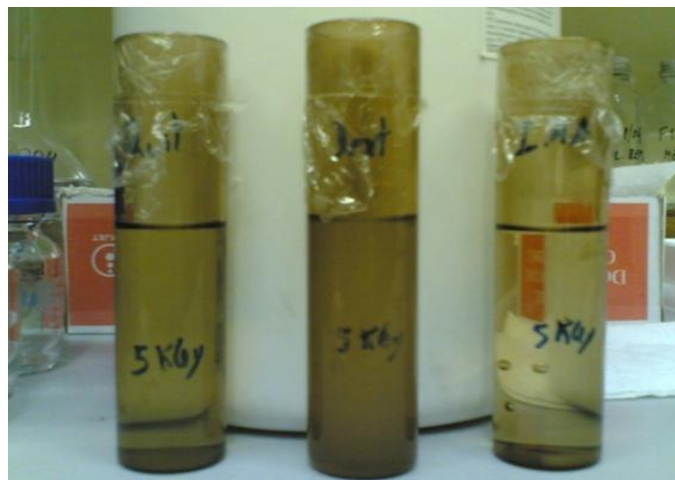


Figura 3.2 — Imagem dos géis obtidos por irradiação γ .

Genericamente, após as diferentes reacções, foi possível observar que as amostras obtidas apresentavam graus de viscosidade distintos, sendo estes dependentes do tempo de irradiação de cada uma das amostras. Deste modo, e por observação directa, verificou-se que os géis com maior tempo de irradiação apresentaram maior viscosidade no final.

De salientar que a escolha do Dextrano de tão elevado peso molecular ficou a dever-se a ensaios prévios, no qual foram dissolvidas amostras de Dextrano com peso molecular inferior. O resultado dessa dissolução foram soluções menos viscosas a olho nu, sendo que a amostra com melhor característica a nível de viscosidade foi a de Dextrano utilizado no resto do trabalho. Este resultado é facilmente explicado tendo em conta que, com o aumento do peso molecular do polímero, aumentam o tamanho das cadeias que o constituem. Esse aumento da cadeia por sua vez, leva a um aumento de pontos de interacção entre cadeias distintas levando a que as força intermoleculares de coesão do gel sejam superiores para pesos moleculares elevados.

Em relação aos polissacarídeos, observou-se uma aparente manutenção das suas características, não denotando qualquer variação face às soluções iniciais, ou seja, não ocorre qualquer alteração das propriedades dos polissacarídeos sob influência da radiação.

Já no que respeita à NIPAAm, verificou-se, como seria de esperar, uma variação significativa das suas características, devido à sua polimerização, observando-se a formação de um gel praticamente sólido, contrastando com a solução bastante aquosa do monómero inicialmente preparado.

O esquema da reacção é apresentado na figura seguinte:

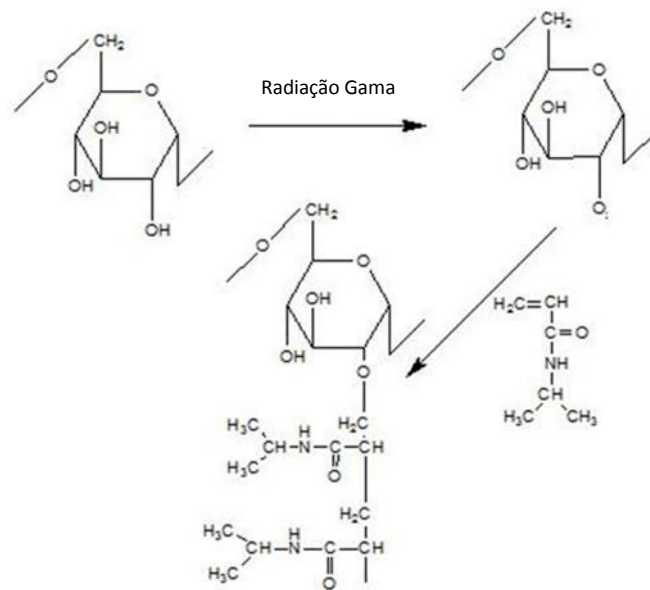


Figura 3.3 — Reacção provável entre Dextrano e N-Isopropilacrilamida, sob a presença de radiação γ .

A imagem anterior mostra a reacção entre NIPAAm e Dextrano. Devido à elevada energia que este tipo de radiação apresenta, podem aparecer, na molécula de Dextrano radicais livres nos grupos hidroxilo que vão dar origem à Poli (N-isopropilacrilamida) enxertada no polissacarídeo. Este tipo de reacção pode ocorrer em qualquer um dos grupos hidroxilo da molécula de Dextrano.

Para o caso do Quitosano, o esquema reaccional é semelhante ao apresentado na figura 3.3, sendo a única diferença a existência de menos um grupo hidroxilo. Estudos semelhantes utilizando Quitosano e outro polímero, como HEMA por exemplo, revelaram que o processo reaccional é em tudo idêntico ao descrito nesta figura (Casimiro *et al*, 2005).

3.3.1. Análise elementar

Os ensaios de análise elementar foram efectuados com o objectivo de observar a variação da percentagem dos diferentes elementos constituintes dos géis. Nesta secção serão apresentados os resultados obtidos através desta técnica de caracterização para os diferentes géis sintetizados.

3.3.1.1. Sistemas de base Dextrano

Da observação do esquema reaccional apresentado na Figura 3.4 verifica-se que, para o caso do Dextrano, com a reacção efectuada, ocorre a introdução de moléculas de Azoto na molécula do polissacarídeo. Deste modo, a quantidade de PNIPAAm introduzida no gel pode ser avaliada pela quantificação da percentagem de Nitrogénio no copolímero obtido. A figura seguinte apresenta a variação da percentagem de Azoto para os sistemas de base Dextrano.

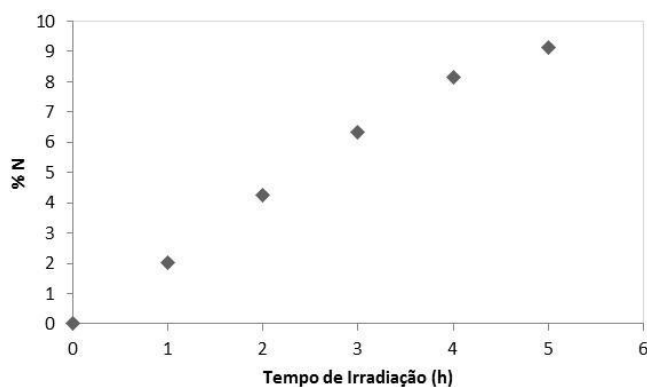


Figura 3.4 — Variação da percentagem de Azoto presente nas amostras de Dextrano ao longo dos diferentes tempos de irradiação.

Como se pode observar na figura anterior, verifica-se um aumento da percentagem de Azoto com o aumento do tempo de irradiação, ou seja, existe uma relação directa entre o total de NIPAAm efectivamente introduzido no gel e o tempo a que este se encontra submetido à irradiação. Verifica-se, no entanto, que o aumento da percentagem de Azoto ao fim de 5 horas de irradiação, face ao mesmo resultado para os sistemas com 4 horas de irradiação, é menos significativo do que os verificados para os sistemas anteriores.

Este resultado pode, pois, sugerir que, ao fim de 5 horas, a reacção começa a aproximar-se de um estado de equilíbrio, não havendo um incremento substancial da percentagem de Azoto e, conseqüentemente, de NIPAAm para tempos de reacção superiores. Este resultado pode, no entanto, encontrar-se dependente do total de NIPAAm introduzido na reacção, sendo de esperar que, para concentrações superiores de NIPAAm, o equilíbrio seja alcançado para tempos de irradiação superiores.

Tal como seria de esperar, a amostra de Dextrano sem qualquer tipo de alteração, ou seja, apenas sujeita a irradiação na ausência de NIPAAm não apresenta qualquer valor de Azoto na sua estrutura final.

Globalmente, verifica-se um incremento de aproximadamente 10% no total de Azoto na amostra.

Com base nos resultados obtidos, foi efectuado um estudo mais aprofundado por forma a obter valores concretos para a percentagem de copolímero introduzido em cada gel. Para tal, recorreu-se ao estudo da variação de peso total do gel, antes e após a reacção, e da variação da percentagem de Azoto em cada uma das amostras. A percentagem de copolímero foi calculada com recurso à seguinte expressão:

$$\% \text{copolímero} = \frac{m_g - m_o}{m_o} \times 100 \quad (3.1)$$

Em que: m_g é a massa do polímero após a reacção de polimerização e m_o a massa original antes de irradiado.

Os valores obtidos para cada um dos géis encontram-se na Tabela 3.II.

Tabela 3.II — Variação da percentagem de copolímero com o tempo de reacção nos sistemas de Dextrano.

Tempo de irradiação (h)	Percentagem de copolímero (%)
1	16
2	34
3	51
4	65
5	71

Como se pode verificar a partir da tabela anterior, e tal como seria esperado, observa-se um aumento da percentagem total de copolímero final nos géis com o aumento do tempo de irradiação de cada gel. Verificam-se também que, através deste método, é possível introduzir nos hidrogéis percentagens elevadas de PNIPAAm.

Tal como referido na secção 1.3. do capítulo 1, a cinética de reacção de copolimerização é de uma extrema complexidade não tendo por isso sido alvo de estudo neste trabalho. No entanto, e por forma a dar alguma ideia relativamente a esta, foi determinado apenas um parâmetro que não é uma constante cinética, embora esteja indirectamente com ela relacionada. A caracterização que permitiu esta abordagem foi a determinação da %N nos géis obtidos ao longo do tempo. Os resultados foram logaritmizados e correlacionados com o tempo de reacção.

A figura seguinte mostra os resultados obtidos através do método gráfico para sistemas de base Dextrano.

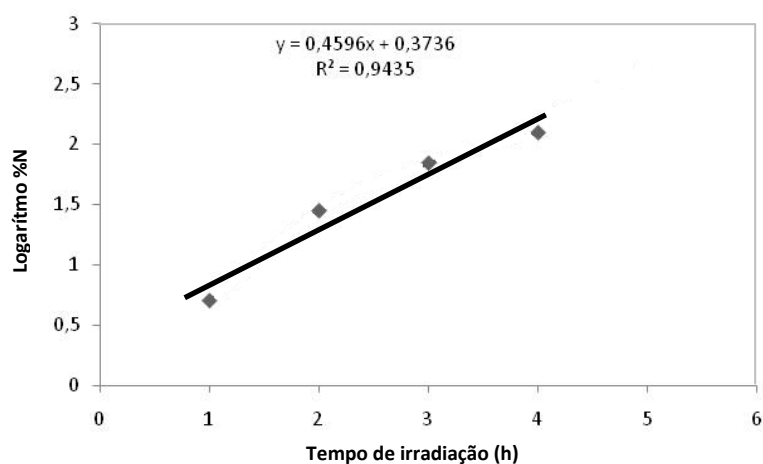


Figura 3.5 — Resultados obtidos para os sistemas de base Dextrano.

Na figura anterior é possível concluir que existe um comportamento aproximadamente linear na evolução do logaritmo da percentagem de Azoto com o tempo de reacção.

Quanto ao parâmetro cinético, o valor determinado para estes sistemas foi de $0,459 \text{ h}^{-1}$. Genericamente, este valor sugere-nos uma evolução da cinética de reacção, sugerindo com o resultado obtido que as reacções de 5 horas decorrem de forma mais rápida do que as reacções com menor tempo de reacção.

3.3.1.2. Sistemas de base Quitosano

Para o caso do Quitosano, e observando a sua molécula, verifica-se que, por cada unidade estrutural, existe um átomo de Azoto presente no grupo amina deste polissacarídeo. Deste modo, a análise da quantidade de NIPAAm introduzida no

sistema final e a sua variação com o tempo de reacção, determinada através da percentagem de Azoto, não é directa, tendo sido necessário efectuar uma análise ao Quitosano verificando qual a percentagem inicial de Azoto presente na amostra e, posteriormente, verificar a evolução desta com o tempo de irradiação dos diferentes géis. Na figura seguinte apresenta-se a variação da percentagem de Azoto com o tempo de irradiação para os sistemas de base Quitosano.

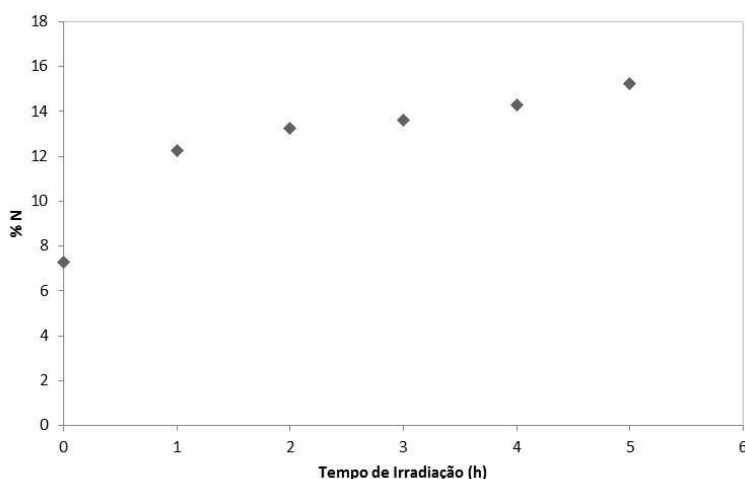


Figura 3.6 — Variação da percentagem de Azoto presente nas amostras de Quitosano ao longo dos diferentes tempos de irradiação.

Como foi referido anteriormente, a solução de Quitosano sem NIPAAm apresenta uma percentagem de Azoto elevada, neste caso cerca de 7%, denotando a presença dos grupos amina do polissacarídeo. Mais uma vez e em consonância com o verificado para os géis de base Dextrano, observou-se uma dependência entre a percentagem de Azoto nos géis e o tempo de irradiação a que foram submetidos individualmente, sendo que mais uma vez os géis com maior tempo de reacção foram os que apresentaram uma maior proporção de Azoto no final.

Os valores obtidos foram todos superiores aos encontrados para os géis de base Dextrano. No entanto, este resultado já foi justificado pelo facto de o próprio polissacarídeo apresentar Azoto na sua estrutura base. Se excluirmos o valor obtido para o Quitosano sozinho a todos os resultados obtidos, verifica-se que o valor de Azoto é semelhante ao encontrado nos géis de Dextrano, pelo que podemos sugerir que, apesar das diferenças entre os dois materiais, a reacção e o seu rendimento foram semelhantes. De salientar, no entanto, que apesar dos valores serem relativamente próximos dos obtidos para os géis de Dextrano, o facto do peso molecular dos dois ser completamente diferente sugere que as ramificações do copolímero apresentaram diferentes tamanhos, sendo de prever que as ramificações sejam de tamanho superior para o Quitosano.

Em consonância com o estudo efectuado para os sistemas de base Dextrano, foi determinado um parâmetro cinético de reacção, com base na variação da percentagem de Azoto presente na amostra. Esta análise foi efectuada já excluindo o valor inicial de Azoto presente no Quitosano puro. A figura seguinte apresenta a representação gráfica do logaritmo da percentagem de Azoto em função do tempo de irradiação e o respectivo ajuste linear.

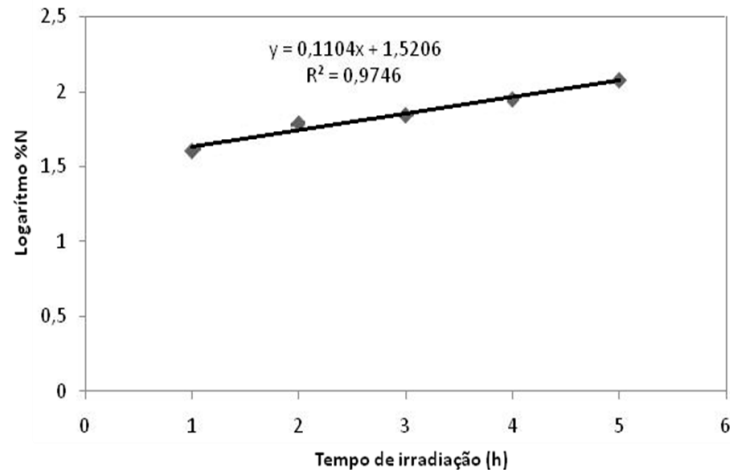


Figura 3.7 — Resultados obtidos para os sistemas de base Quitosano.

Na Figura 3.7 é possível observar que o ajuste linear obtido é bastante próximo dos valores determinados experimentalmente. Em relação ao valor determinado para o parâmetro cinético, este foi de $0,110 \text{ h}^{-1}$, comparativamente mais baixo do que o anteriormente encontrado para os sistemas de Dextrano. Este valor permite sugerir que a reactividade do NIPAAM para o Quitosano é menor do que para os sistemas de base Dextrano, traduzindo-se essa diferença nos valores encontrados. No entanto, é de salientar que o valor obtido para os sistemas irradiados apenas 1 hora é superior para o Quitosano. Ou seja, a reacção sofre uma variação menos significativa na percentagem de Azoto adicionado com o tempo de irradiação, mas, na sua fase inicial, tende a ser mais rápida do que para os sistemas com base Dextrano.

Finalmente, foi ainda efectuado o estudo referente à percentagem de copolímero introduzida nos géis finais. Mais uma vez, recorreu-se à expressão 3.1 para esse efeito e os resultados obtidos encontram-se na tabela 3.III.

Tabela 3.III — Variação da percentagem de copolímero com o tempo de reacção nos sistemas de Quitosano.

Tempo de Reacção (h)	Percentagem de copolímero (%)
1	40
2	48
3	51
4	57
5	64

Na tabela anterior observa-se que ocorre, como previsto, um aumento da percentagem total de copolímero introduzido no sistema com o aumento do tempo de irradiação total. Constata-se que ocorre um aumento significativo logo na primeira hora de irradiação, verificando-se que, com o aumento do tempo de irradiação, a percentagem de copolímero introduzido vai sendo menor, indicando uma possível estabilização dos valores para tempos de irradiação pouco mais elevados do que os testados durante este trabalho.

Os valores obtidos neste estudo estão de acordo com estudos efectuados, nomeadamente no aumento da percentagem de copolímero enxertado com o aumento do tempo de irradiação, ou da dosagem de radiação (Cai *et al*, 2005). Outros estudos utilizando outros materiais como copolímero, tais como HEMA apresentam também resultados semelhantes (Casimiro *et al*, 2005).

Comparativamente com os resultados obtidos para os sistemas de base Dextrano, observa-se, tal como ocorreu para os valores de análise elementar, que a percentagem de copolímero introduzido no gel é superior para os sistemas de Quitosano quando o tempo de irradiação é menor, verificando-se que o aumento deste valor é superior nos sistemas de Dextrano quando se aumenta o tempo de irradiação, levando a que, para uma irradiação de 5 horas, o sistema de Dextrano já apresente uma maior quantidade de PNIPAAm na sua constituição. Pode sugerir-se que a reactividade da NIPAAm para o Quitosano é maior para baixos tempos de irradiação, mas que, com o aumento deste parâmetro, esta aumenta para os sistemas de Dextrano, não apresentando sinais claros de uma estabilidade significativa no total de PNIPAAm introduzido, enquanto para o Quitosano se verifica uma maior estabilização.

Foi efectuado um estudo comparativo para tempos de irradiação superiores, nomeadamente 24 horas. No entanto, e após efectuado o estudo de análise elementar aos géis obtidos de Dextrano e Quitosano, não se observaram variações muito significativas para o valor da %N obtido, pelo que foi decidido não efectuar ensaios tão extensos no tempo visto as diferenças não serem acentuadas. Assim, e para o Dextrano obteve-se um valor de 10,4% de Azoto e para o Quitosano um valor

de 17,3% de Azoto. Estas observações foram também comprovadas em estudos para outros materiais, no qual se observou que a partir de 5 horas as variações na percentagem de copolímero introduzido no sistema não são significativas (Casimiro *et al*, 2005).

3.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)

A técnica da Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier (FTIR) é uma das técnicas espectroscópicas mais utilizada na identificação dos diferentes grupos constituintes de um dado material. Este tipo de análise baseia-se na propriedade dos materiais, principalmente de as suas ligações químicas possuírem frequências de vibração e de alongação específicas, às quais correspondem níveis energéticos específicos da molécula. Deste modo, quando a radiação incide sobre o material e o atravessa, a molécula absorve-a. No entanto, como cada grupo funcional apresenta valores diferentes e característicos para vibração, alongação e rotação, a leitura do espectro, e as suas bandas, permite a verificação dos tipos de grupos que constituem cada composto (Morrison & Boyd, 2009).

Esta técnica foi utilizada neste trabalho para tentar verificar a introdução de PNIPAAm no gel e, ao mesmo tempo, observar a variação desta com o tempo de irradiação, sendo expectável o aparecimento das ligações N-H inexistentes no Dextrano e um aumento das mesmas para os géis de base Quitosano.

3.3.2.1. Sistemas de base Dextrano

Os ensaios de FTIR foram efectuados de forma a verificar as alterações à estrutura dos polissacarídeos após a reacção de polimerização. Para tal, espectros de Dextrano e de N-Isopropilacrilamida foram obtidos antes de irradiação, sendo posteriormente comparados com o espectro de cada amostra após a modificação. A figura seguinte mostra o espectro de FTIR do Dextrano utilizado nos ensaios.

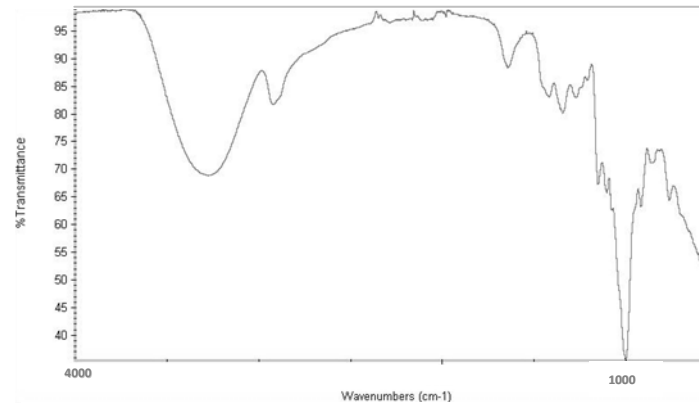


Figura 3.8 — Espectro de FTIR do Dextrano.

A análise da figura anterior, nomeadamente dos diversos picos apresentados, permite efectuar uma caracterização de todos os grupos constituintes do polissacarídeo. A banda apresentada a $\sim 3300\text{cm}^{-1}$ e os picos a $\sim 1640\text{cm}^{-1}$ e $\sim 1020\text{cm}^{-1}$ são resultantes dos grupos hidroxilo existentes, sendo que: a primeira é referente à elongação dos mesmos; a segunda devido à elongação dos grupos —OH ligados por ligações de hidrogénio; e finalmente a terceira devido à vibração dos mesmos. O pico apresentado a $\sim 2922\text{cm}^{-1}$ é devido à elongação da ligação C-H. Finalmente, o pico a 1150cm^{-1} refere-se à elongação do grupo C-O-C presente no anel de Dextrano (Ciardelli *et al*, 2006).

A figura seguinte apresenta o espectro de Infravermelho para o monómero utilizado NIPAAm.

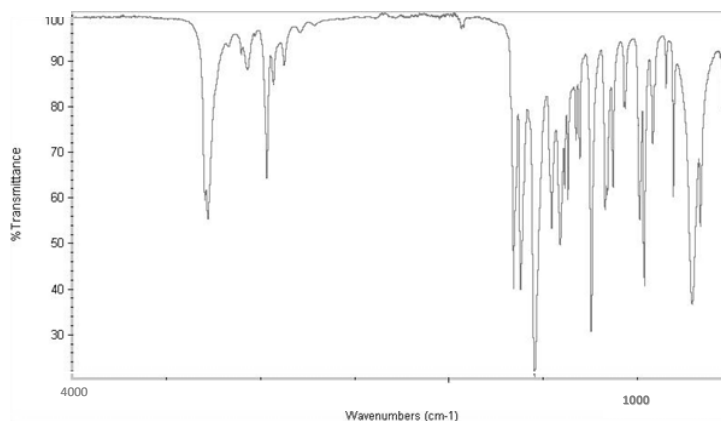


Figura 3.9 — Espectro de FTIR de NIPAAm.

Efectuando uma análise semelhante a este espectro é possível verificar a existência de diferentes grupos e ligações. Os picos observados a $\sim 3280\text{ cm}^{-1}$ e 1550 cm^{-1} são referentes ao grupo amina presente na estrutura. O primeiro devido a alongação do mesmo e o segundo devido à deformação da ligação N-H. O pico a $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ é referente à alongação do grupo C=O, enquanto o conjunto de picos observados entre ~ 1430 e $\sim 1370\text{ cm}^{-1}$ é referente à deformação das ligações dos grupos —CH_3 (Katsumoto *et al*, 2002).

A figura seguinte apresenta os espectros obtidos para o sistema 1 e 5, comparativamente ao obtido para o Dextrano.

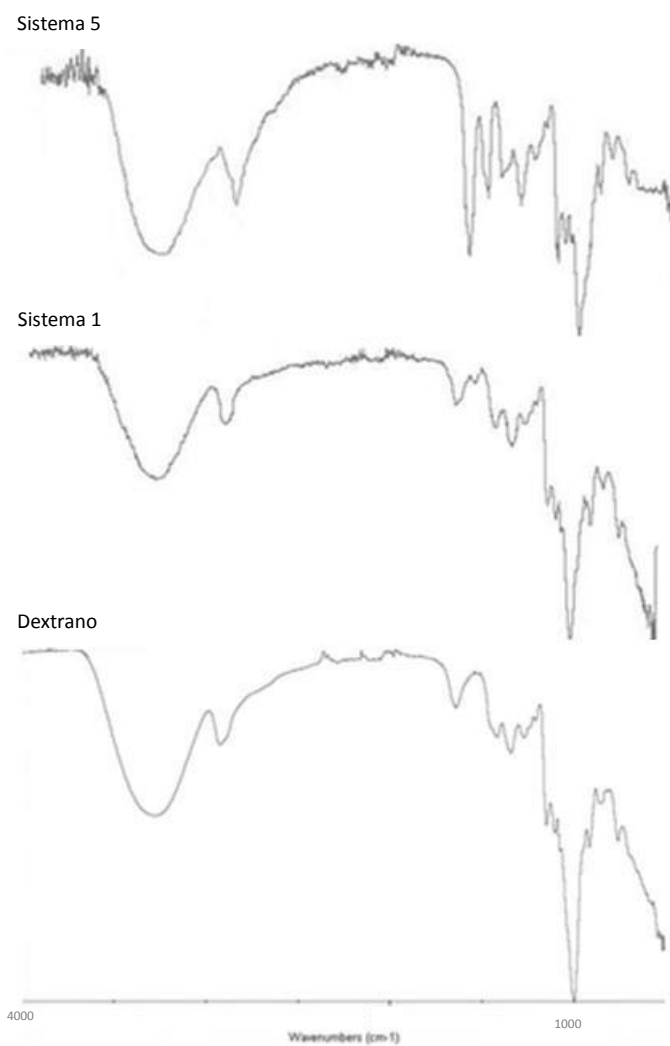


Figura 3.10 — Espectros de FTIR-ATR obtidos para o Dextrano, sistema com 1 e 5 horas de irradiação.

Comparativamente ao espectro de Dextrano sem modificação, é possível observar diversas alterações resultantes da introdução de NIPAAm no sistema. Desta forma observou-se o aparecimento de um pico a $\sim 1550 \text{ cm}^{-1}$, previamente descrito como referente a deformações na ligação do grupo amina existente na NIPAAm. É

também possível verificar um aumento ligeiro na intensidade do pico a $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$, possivelmente relacionado com as vibrações do grupo C=O da NIPAAm. Quando comparado com o sistema 5, verifica-se um aumento da intensidade dos picos relacionados com os grupos amina de NIPAAm, nomeadamente a 1640 cm^{-1} e a 1550 cm^{-1} , indicando um aumento da concentração deste composto no sistema final. Como foi já constatado, é também possível observar um incremento na intensidade do pico a 1400 cm^{-1} referente à deformação das ligações dos grupos —CH_3 existentes na PNIPAAm. É possível, pois, afirmar que ocorre uma influência na constituição dos géis com a variação do tempo de irradiação de cada amostra, observando-se um aumento da concentração de PNIPAAm no polímero final com o incremento do tempo a que cada amostra foi submetida a irradiação. Esta conclusão é importante, uma vez que mostra que ocorreu a polimerização da NIPAAm em PNIPAAm. A técnica é, contudo, inconclusiva quanto ao facto de comprovar se realmente ocorreu uma reacção de copolimerização ou se estamos na presença apenas da mistura dos dois homopolímeros.

3.3.2.2. Sistemas de base Quitosano

Uma análise semelhante foi efectuada aos sistemas de base Quitosano. A figura seguinte mostra o espectro obtido para o Quitosano sem modificação.

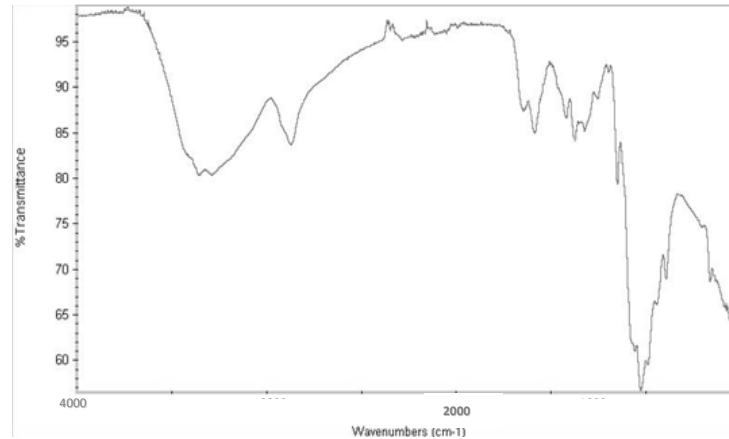


Figura 3.11 — Espectro de FTIR para o Quitosano.

Tal como previsto, o espectro do Quitosano apresenta algumas alterações quando comparado com o Dextrano. A principal alteração prende-se com os picos característicos do grupo —NH_2 existente neste polissacarídeo. O pico presente a $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$ resulta, tal como no Dextrano, da deformação dos grupos —OH presentes, mas, para além disso, no caso do Quitosano resulta também da elongação dos grupos —NH ligados por ligações de hidrogénio. É também possível observar picos a $\sim 1550 \text{ cm}^{-1}$ e a 1373 cm^{-1} , associados a deformação do grupo amina e elongação da ligação C-N respectivamente. Os outros picos observados no espectro são comuns ao Dextrano, sendo característicos do anel de polissacarídeo (Van de Velde & Kiekens, 2004).

Mais uma vez, foi efectuada o estudo com os sistemas com diferentes tempos de reacção, observando-se as alterações nos espectros de cada gel. A figura seguinte apresenta o espectro de FTIR obtido para o sistema 6, com 1 hora de reacção.

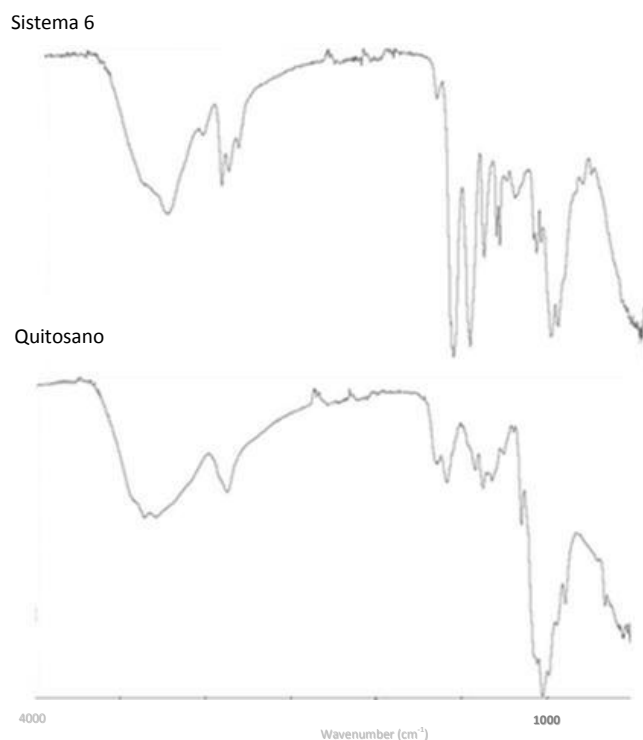


Figura 3.12 — Espectro de FTIR-ATR para o Quitosano e o sistema 6.

Comparando os resultados é possível verificar alterações no espectros obtidos resultantes da reacção efectuada. Tal como para os sistemas de base Dextrano, observa-se um aumento dos picos relacionados directamente com a presença do grupo amina, proveniente, para além do próprio Quitosano, da introdução no sistema de NIPAAm. Verifica-se desta forma um incremento na intensidade dos picos observados a 1640 cm^{-1} e a 1550 cm^{-1} já anteriormente caracterizados.

Tal como sucedido para o Dextrano, também para o caso do Quitosano, os resultados mostram o sucesso na polimerização da NIPAAm não mostrando, no entanto, se o gel obtido resulta da mistura física de dois homopolímeros, Quitosano e

PNIPAAm ou na real copolimerização de enxerto de ambos, sendo por isso também inconclusivo.

3.3.3. Ressonância Magnética Nuclear do Protão (^1H -RMN)

A técnica da Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) do protão é uma das técnicas mais utilizadas na identificação das diferentes estruturas que compõem um sistema. Esta técnica fundamenta-se numa absorção selectiva de ondas de rádio por parte das diferentes amostras colocadas sob um campo magnético (Gil & Geraldes, 2002). No entanto, para que sejam susceptíveis de ser utilizadas, estas têm de possuir núcleos magnéticos. Por ser o mais abundante em todas as moléculas, o protão é o mais utilizado nesta técnica, podendo, no entanto, existir RMN de Flúor 19, ou de Fósforo 31, ou de Carbono 13.

Quando se sujeita um núcleo de Hidrogénio a um campo magnético externo intenso e, simultaneamente, se irradia o mesmo com energia electromagnética, o núcleo de Hidrogénio acaba por absorver parte dessa energia, designando-se esse processo por «ressonância magnética», e produzir um espectro característico, dado que esta absorção está quantizada pelo mesmo. Esta absorção não ocorre a menos que a frequência da radiação e a intensidade do campo magnético tenham valores bem definidos. Os aparelhos de RMN permitem medir a absorção de energia pelos núcleos de ^1H e de ^{13}C , além do núcleo de outros elementos.

Assim como os electrões possuem o número quântico *spin* (*S*), os núcleos de ^1H e de alguns isótopos também possuem *spin*. O núcleo do Hidrogénio comum é como o electrão: o seu *spin* é $1/2$ e pode assumir dois estados: $+1/2$ e $-1/2$. Isto significa que o núcleo do Hidrogénio possui dois momentos magnéticos. Outros núcleos com número quântico *spin* igual a $1/2$ são os dos isótopos ^{13}C , ^{19}F e ^{31}P .

Elementos como ^{12}C , ^{16}O e ^{32}S não têm *spin* e por isso não dão espectros de RMN.

Como o protão tem carga eléctrica, a rotação deste gera um pequeno momento magnético — momento cuja direcção coincide com a do eixo do *spin*. Este pequeno momento magnético confere ao protão em rotação as propriedades de um magneto. Na ausência de campo magnético externo, os momentos magnéticos dos protões de uma amostra estão orientados ao acaso. Quando um composto contendo Hidrogénio é colocado num campo magnético externo, os protões só podem assumir uma de duas orientações possíveis em relação ao campo magnético externo: «paralelamente» ao campo externo ou «antiparalelamente» ao campo. Estes dois alinhamentos do protão num campo magnético não têm a mesma energia. Quando o protão está alinhado a favor do campo (paralelamente) a sua energia é mais baixa do que a energia quando está alinhado contra o campo magnético. É necessária uma certa quantidade de energia para fazer o protão passar do estado de energia mais baixa para o estado de maior energia. No aparelho de ^1H RMN esta energia é proporcionada pela radiação electromagnética utilizada. Quando ocorre esta absorção dizemos que os núcleos estão em ressonância com a radiação. Numa molécula, alguns núcleos de Hidrogénio estão em regiões de densidade electrónica maior do que outros; por isso, os núcleos absorvem energia em campos magnéticos de intensidades ligeiramente diferentes. Os sinais destes protões, assim, aparecem em diferentes posições no espectro de RMN apresentando o chamado «deslocamento químico». A intensidade do campo em que a absorção ocorre depende sensivelmente das vizinhanças magnéticas de cada protão. Estas vizinhanças magnéticas, por sua vez, dependem de dois factores: dos campos magnéticos gerados pelos electrões em movimento e dos campos magnéticos que provêm de outros protões vizinhos (acoplamentos de *spins* entre os núcleos de ^1H). A circulação dos electrões de uma ligação sob a influência de um campo magnético externo gera um pequeno campo magnético que tem um efeito protector do protão em relação ao campo externo. Um protão que está fortemente protegido pelos electrões não pode absorver a mesma energia do que um outro de baixa protecção, num mesmo campo magnético externo. Um protão blindado absorverá energia num

campo externo de maior intensidade (ou em frequências mais elevadas). O campo externo deve ser mais intenso para compensar o efeito do pequeno campo induzido. O grau de protecção do protão pelos electrões circulantes depende da densidade electrónica relativa em torno desse protão. A densidade electrónica, por sua vez, depende, em grande parte, da presença de grupos electronegativos. Quanto mais próximo destes grupos, menos protegido estará o protão. A deslocalização de electrões (ressonância) também contribui para a desblindagem do protão. Assim, protões ligados a carbonos de duplas e triplas ligações possuem blindagem relativamente alta, devido à alta densidade electrónica das ligações π , e absorvem energia num campo magnético mais alto. Os deslocamentos químicos são medidos na escala horizontal do espectro, em Hertz (Hz), e normalmente expressos em partes por milhão (ppm), devido ao facto de estes deslocamentos serem muito pequenos em comparação com a intensidade do campo magnético externo. Quanto mais para esquerda se localiza o sinal, menor é o campo magnético sobre o núcleo.

Neste trabalho, o estudo da ressonância magnética nuclear do protão foi efectuado para verificar e confirmar os resultados obtidos pelo FTIR-ATR e permitir uma melhor determinação dos grupos constituintes de cada gel e respectivas quantidades.

3.3.3.1. Sistemas de base Dextrano

A figura seguinte apresenta um espectro de RMN de protão obtido para o Dextrano.

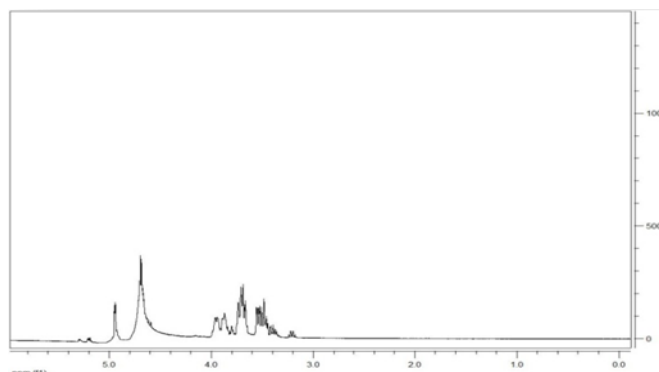


Figura 3.13 — Espectro de ^1H -RMN de Dextrano.

Na figura anterior é possível identificar os picos característicos do anel de Dextrano, sendo que a grande maioria dos mesmos se encontra incluída na gama 3.0-4.0 ppm. Para além destes, é ainda possível observar dois picos distintos: um largo a 4,7 ppm, característico da água, e outro a 4,9 ppm, também relacionado com um dos prótons do anel de Dextrano (Shi & Zhang, 2006). O espectro de N-isopropilacrilamida foi também determinado para poder ser efectuada uma comparação posterior com os resultados obtidos, tendo-se verificado, neste caso, que o espectro é dominado por um pico presente a aproximadamente 1,0 ppm, atribuído aos grupos $-\text{CH}_3$ existentes na molécula.

Para o sistema 1, com apenas 1 hora de irradiação, o Espectro de Ressonância Magnética determinado foi o que se apresenta seguidamente:

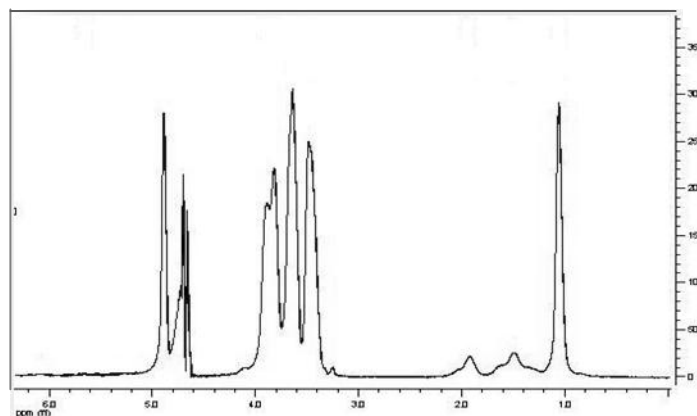


Figura 3.14 — Espectro de ^1H -RMN do sistema de Dextrano com 1 hora de irradiação.

Como é possível verificar na figura anterior, observam-se alterações significativas neste espectro quando comparado com o espectro de Dextrano puro com a introdução de diversos picos associados à presença de PNIPAAm no sistema. Deste modo, observa-se que ocorre um aparecimento de um pico de intensidade relativamente significativa na zona de 1,0 ppm associado aos dois grupos $-\text{CH}_3$ existentes nas extremidades da molécula de PNIPAAm. Outros picos relevantes associados a este composto encontram-se presentes também no espectro, sendo que apresentam, no entanto, uma intensidade inferior quando comparada com o primeiro referenciado.

Para o sistema com o máximo de tempo de irradiação testado, 5 horas, o espectro encontrado foi o seguinte:

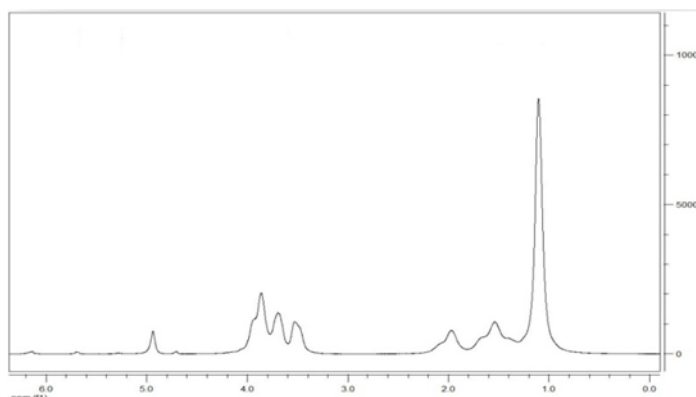


Figura 3.15 — Espectro de ¹H-RMN obtido para o sistema de Dextrano com 5 horas de irradiação.

Neste caso, e tal como acontecia no anterior, observa-se que o pico de maior intensidade se encontra associado aos grupos —CH₃ de PNIPAAm e é apresentado por volta de 1,0 ppm. No entanto, comparativamente ao caso anterior, onde este pico apresentava uma intensidade de cerca de 300, com o aumento do tempo de irradiação ocorre um aumento da intensidade do mesmo, para cerca de 10000, o que vem corroborar as conclusões retiradas em secções anteriores relativamente à dependência do tempo de irradiação da amostra, e a quantidade final de PNIPAAm introduzida no gel.

Tal como sucedia para os traços de FTIR-ATR estes resultados não comprovam que tenha sido obtido um copolímero de enxerto ou uma mistura física dos dois homopolímeros. Estudos para outros compostos relevam que, para uma comprovação da copolimerização de enxerto através de RMN, seria necessário efectuar, não apenas este estudo do RMN do protão mas também o RMN de Carbono-13 (Cai *et al*, 2005).

3.3.3.2. Sistemas de base Quitosano

De igual forma foram efectuados estudos semelhantes envolvendo os géis de base Quitosano. O espectro de Quitosano é apresentado na figura seguinte.

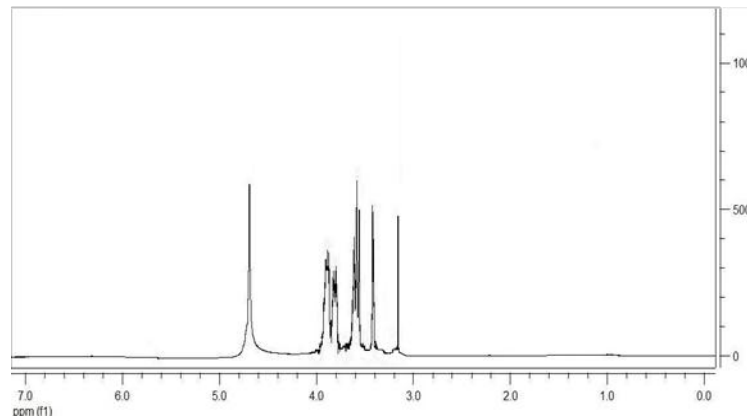


Figura 3.16 — Espectro de ¹H-RMN de Quitosano puro.

Como se pode observar na figura anterior, o espectro de RMN de Quitosano apresenta apenas os picos relativos ao anel de polissacarídeo todos presentes na gama dos 3,0 a 4,0 ppm, pelo que o espectro é semelhante ao encontrado para o Dextrano. No entanto, apesar de se encontrarem no mesmo intervalo, os valores para cada protão no Quitosano são distintos dos do Dextrano, o que se deve, principalmente, ao efeito produzido nos protões pelo grupo amina existente no Quitosano (Cai, *et al*, 2005).

Para o sistema com 1 hora de irradiação, o espectro obtido foi o que se apresenta de seguida.

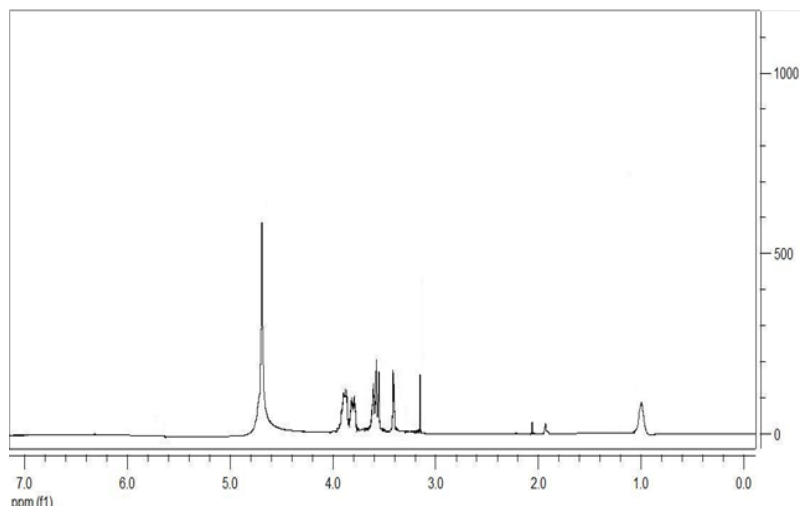


Figura 3.17 — Espectro de ¹H-RMN para o sistema de base Quitosano com 1 hora de irradiação.

Na figura anterior verificam-se, tal como esperado, algumas alterações no espectro final do gel relacionadas com a introdução de PNIPAAm no sistema. Mais uma vez, e tal como aconteceu para os sistemas de base Dextrano, também aqui a principal modificação ocorreu com a introdução de um pico de intensidade moderada a cerca de 1,0 ppm, atribuído aos grupos —CH₃ de PNIPAAm. Para além deste, também se observam picos perto da zona dos 2,0 ppm, atribuídos igualmente aos grupos constituintes da molécula de PNIPAAm.

Para o sistema com 5 horas de irradiação, o espectro obtido foi o que se apresenta na figura seguinte.

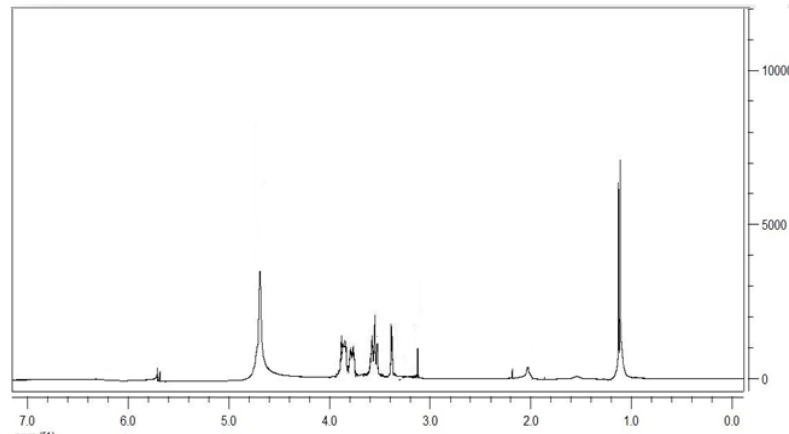


Figura 3.18 — Espectro de ¹H-RMN para o sistema de base Quitosano com 5 horas de irradiação.

Na figura anterior observa-se, tal como acontecia para o caso dos géis de base Dextrano, um aumento relativo da intensidade dos picos associados à presença de PNIPAAm, demonstrando assim uma correlação entre o tempo total de irradiação da amostra e a sua composição final. No entanto, e tal como se tinha verificado em situações anteriores, tais como com o recurso ao FTIR, apresentado na secção 3.3.2.2, também o RMN mostra ligeiras diferenças entre a intensidade dos picos relativos a PNIPAAm para os sistemas de base Dextrano e Quitosano. Observa-se, assim, que todos os picos referentes ao copolímero apresentam intensidades relativamente inferiores para o Quitosano, quando comparado com o Dextrano. Estas diferenças apresentadas por esta técnica são relativamente semelhantes às apresentadas anteriormente, pelo que podemos concluir que as amostras são relativamente homogéneas, dado que foram usadas diferentes partes das mesmas para cada estudo. No entanto, a principal conclusão de todas estas técnicas de caracterização da estrutura dos géis é a de que existe uma relação directa entre o tempo de irradiação de cada amostra e a composição final de cada gel, nomeadamente, a quantidade de copolímero introduzido com sucesso no sistema.

Relativamente ao sucesso da copolimerização, mais uma vez se repete a situação observada para os géis de Dextrano, já que o traço de RMN de Protão não mostra com sucesso a distinção entre a mistura de dois homopolímeros e um copolímero de enxerto (Cai *et al*, 2005).

3.3.4. Determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)

A determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST) para materiais termosensíveis como a PNIPAAm é de vital importância, uma vez que as suas características e propriedades variam, por vezes de forma drástica, com a temperatura entre outros parâmetros. Deste modo, é necessário efectuar essa determinação e, conseqüentemente, encontrar os valores das diferentes características a temperaturas superiores e inferiores à LCST. Como referido na secção 2.3.4 relativa aos materiais e métodos, o procedimento adoptado para esta determinação foi o método espectroscópico UV-Vis, no qual a LCST é determinada através da turvação apresentada pela solução devido à gelificação e turvação da solução de PNIPAAm.

3.3.4.1. Sistemas de base Dextrano

Foram efectuados estudos para todos os sistemas, inclusive para soluções de Quitosano, Dextrano e PNIPAAm irradiados durante 5 horas para verificar o comportamento das mesmas. A Figura 3.19 apresenta os resultados para a solução de Dextrano, PNIPAAm, sistemas 1 e 5.

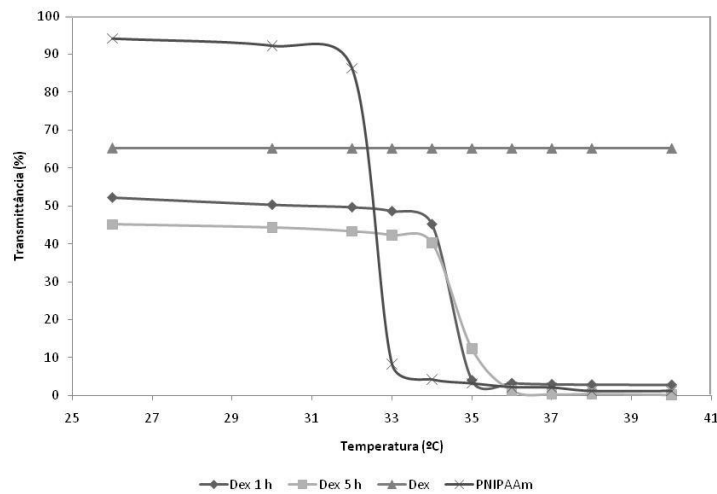


Figura 3.19 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Dextrano, PNIPAAm e sistemas 1 e 5.

Da análise da figura anterior é possível retirar diversas conclusões em relação aos valores de LCST obtidos. Em primeiro lugar, e tal como esperado, não se observa nenhuma transição na solução de Dextrano pura, uma vez que este material não exibe qualquer temperatura de solução crítica. Em relação à PNIPAAm, observa-se um comportamento distinto do descrito anteriormente para o Dextrano. Deste modo, verifica-se, para temperaturas próximas da temperatura ambiente (25°C), um comportamento estável nas propriedades ópticas registadas. A solução apresenta elevados níveis de transmitância, ou seja, é praticamente transparente. No entanto, para as temperaturas compreendidas entre 32°C e 33°C, verifica-se uma queda acentuada deste valor, queda essa da ordem dos 90%. Ou seja, observa-se uma turvação da solução, decorrente da aglomeração e da gelificação do composto. Após esta queda, verifica-se uma nova estabilidade, desta vez para valores de transmitância próximos de 0, ou seja, próximos da opacidade total da solução. Este comportamento é típico deste tipo de material termossensível. No caso da solução

de PNIPAAm, foi possível verificar que o valor para a temperatura de solução foi de aproximadamente 32,5°C, em consonância com os valores descritos na literatura (Lu *et al*, 2006). É também de salientar que esta transição se verifica de forma abrupta, frequentemente associada à pureza da solução.

Em relação ao sistema 1, sistema de Dextrano com PNIPAAm com 1 hora de irradiação, é possível observar, na Figura 3.21, que este também apresenta um comportamento termossensível, indiciando a introdução de NIPAAm na composição final do gel. No entanto, verifica-se que a transição ocorre a temperaturas mais elevadas do que as determinadas para a solução de PNIPAAm pura. O valor obtido para este sistema foi de aproximadamente 34°C. Este comportamento é frequentemente descrito como sendo devido à introdução de um material hidrofílico na solução de PNIPAAm, uma vez que a adição de mais compostos hidrofílicos permite que ocorra um maior número de ligações de Hidrogénio entre este composto e o meio envolvente, levando à sua solubilidade e estabilidade no mesmo. Deste modo, neste caso, é necessário haver um aumento superior da temperatura, quando comparado com a solução de PNIPAAm pura, para que a quebra das ligações ocorra e se observe a precipitação do gel na solução. No entanto, a figura anterior permite observar que a transição térmica verificada no sistema 1 não ocorre de forma tão abrupta como a observada para a solução de PNIPAAm. Para o sistema 5, observa-se que a temperatura de solução obtida é semelhante à obtida para o sistema 1, podendo concluir-se que não há uma grande dependência desta propriedade com o tempo de irradiação de cada amostra. No entanto, é de salientar que a transição, para o sistema 5, não se encontra tão bem definida como para o sistema anterior, observando-se uma diminuição menos acentuada neste sistema, e que, para além disso, ocorre a temperaturas ligeiramente superiores às verificadas para o sistema 1. Comparativamente, verifica-se também uma diminuição gradual das características de transparência dos sistemas com o aumento do tempo de irradiação.

Estudos envolvendo os mesmo materiais foram já efectuados, (Wang *et al*, 2002) tendo mostrado resultados semelhantes no que se refere à LCST. Os resultados

obtidos encontram-se dentro dos valores determinados neste trabalho, apesar de os materiais terem sido sintetizados por outros métodos (Wang *et al*, 2002).

Paralelamente a este estudo foi efectuada uma análise com o intuito de comprovar a formação de copolímeros de enxerto através deste método e não de uma mistura de homopolímeros. Deste modo, procedeu-se a uma mistura física do polissacarídeo com uma solução de PNIPAAm previamente polimerizada por irradiação. De seguida foi efectuada uma análise semelhante à descrita nesta secção e observou-se que ocorria a formação de duas fases distintas, uma mais sólida, correspondente à gelificação da PNIPAAm e uma outra fase líquida, correspondente ao Dextrano. Este comportamento contrasta com o observado pelos géis sintetizados, já que a mudança de estado ocorre de forma homogénea em todos os géis. Assim, e apesar de ambas as análises de FTIR-ATR e de ^1H -RMN não terem sido conclusivas, este simples teste acabou por comprovar que na realidade estávamos na presença de um copolímero de enxerto e não perante uma mistura de dois homopolímeros.

3.3.4.2. Sistemas de base Qitosano

Um estudo semelhante foi efectuado com os sistemas de base Qitosano, estando apresentado o gráfico, na figura seguinte, com os resultados obtidos para o Qitosano, PNIPAAm e sistemas 6 e 10.

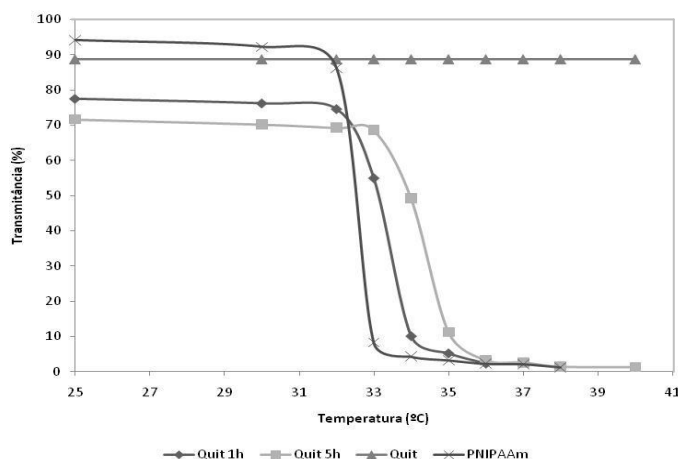


Figura 3.20 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Quitosano, PNIPAAm e sistemas 6 e 10.

Tal como verificado para o Dextrano, também o Quitosano não apresenta qualquer variação na sua transmitância com o aumento da temperatura, resultado já esperado, uma vez que este polissacarídeo também não é termossensível. Em relação ao sistema 6 é possível verificar que este já apresenta uma temperatura crítica de solução determinada em torno dos 33°C. Mais uma vez este aumento para a LCST em relação ao valor para a PNIPAAm pura fica a dever-se à hidrofiliicidade do Quitosano, a qual permite, tal como no caso do Dextrano, um aumento do número de ligações de Hidrogénio entre o gel e as moléculas de solvente. No entanto, comparativamente com o valor obtido para o mesmo sistema mas de base Dextrano, verifica-se que o valor para LCST é inferior ao determinado para esse sistema. Esta diferença ficará a dever-se possivelmente aos diferentes graus de hidrofiliicidade que cada polissacarídeo apresenta, tal como salientada por Jeong (Jeong *et al*, 2002). Ou seja, dado que o Dextrano é comparativamente mais hidrofílico do que o Quitosano, a variação da LCST de PNIPAAm é mais significativa para o primeiro do que para o segundo. Comparativamente a outros estudos realizados anteriormente, verifica-se

que os valores obtidos se encontram, tal como acontecera para o Dextrano, dentro dos obtidos por outros autores (Cai, *et al*, 2005).

Uma conclusão semelhante pode ser retirada para o sistema 10, sistema com 5 horas de irradiação. A temperatura de solução aumentou ligeiramente quando comparada à obtida para o sistema 6, mas pode dizer-se que ambas são de ordens de grandeza semelhantes. No entanto, e tal como observado para o sistema de base Dextrano, com tempo de irradiação semelhante, também a transição neste caso não é tão abrupta abrangendo, uma gama maior de temperaturas. A LCST obtida foi de aproximadamente 34°C, valor que, mais uma vez, é inferior ao obtido para o sistema 5, resultado este justificado, tal como no caso anterior, pela diferença entre as hidrofílicidades de cada um dos polissacarídeos-base.

Tal como efectuado para o Dextrano, também para o Quitosano se efectuou a mistura física dos dois homopolímeros (irradiados por 5 horas) e observou-se o seu comportamento quando se fazia variar a temperatura. O resultado visível foi bastante diferente do obtido para os géis preparados anteriormente, dado que se observa a formação de 2 fases distintas, uma mais sólida, correspondente à PNIPAAm gelificada, e outra líquida correspondente ao Quitosano. Para o caso dos géis preparados como descrito em 3.2, observou-se que toda a mistura se comportava de forma idêntica sem que se notasse a formação de duas fases distintas. Esta diferença leva-nos a concluir, apesar dos resultados de FTIR e RMN de próton, que os géis obtidos eram mesmo copolímeros de enxerto.

Estes resultados obtidos são muito importantes uma vez que demonstram que é possível fazer variar a LCST da PNIPAAm para valores diferentes do que apresenta em estado puro. Esta variação, obtida com a alteração do tempo de irradiação e da hidrofílicidade de cada material utilizado, permite a obtenção de um sistema termossensível a uma dada temperatura, sendo esta modificada consoante a utilização dada a cada gel sintetizado. Para utilizações que necessitem de um sistema com resposta a temperaturas mais elevadas, é necessário utilizar o Dextrano e um tempo de irradiação mais elevado, mas, para aplicações que necessitem de transições a temperaturas mais próximas da LCST de PNIPAAm puro, poderá ser

utilizado o Quitosano com um tempo de irradiação mais baixo. Estas conclusões foram determinadas também por diversos autores em outras situações ou mesmo com outro tipo de materiais, tendo-se actualmente produzido uma variedade significativa de copolímeros de PNIPAAm com diferentes temperaturas de transição.

3.3.5. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água

A determinação da capacidade de absorção de água de um polímero é muito importante para a caracterização deste como hidrogel. Para ser considerado como tal, um polímero tem de apresentar uma capacidade de absorção de água de pelo menos 10%, sendo esta determinada como referido na secção 2.3.5. Esta característica é influenciada por diversos factores, tais como a hidrofiliabilidade ou hidrofobicidade dos diferentes compostos constituintes do polímero, de grupos reactivos dos mesmos, do pH do meio onde é inserido cada polímero ou da força iónica do mesmo.

3.3.5.1. Sistemas de base Dextrano

Foram efectuados inicialmente os estudos de absorção de água para cada sistema sintetizado. A Figura 3.21 apresenta os resultados obtidos para a temperatura de 25°C.

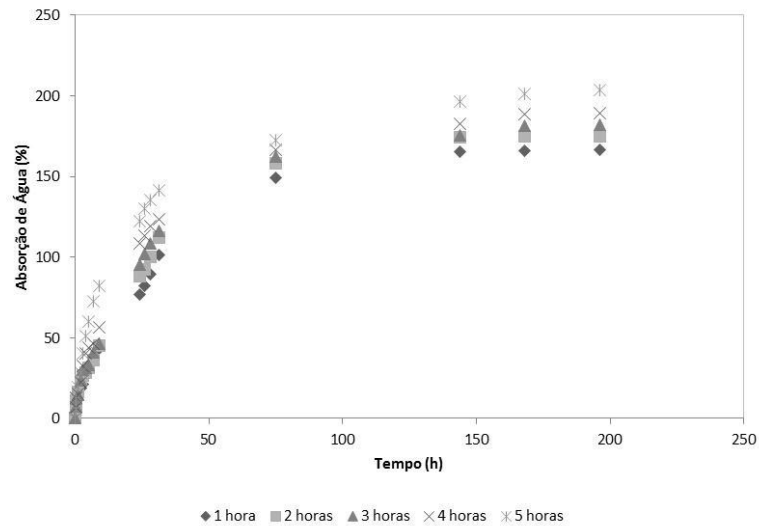


Figura 3.21 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 25°C.

Como se pode observar na figura anterior, verifica-se que todos os sistemas sem exceção apresentam capacidades de absorção de água superiores a 150%, podendo ser classificados como hidrogéis. Estes valores elevados podem ser facilmente explicados tendo em conta que o polímero-base para todos os sistemas é um polissacarídeo com elevado grau de hidrofiliidade e, por isso mesmo, apresentando valores elevados para capacidades de absorção. Para além disso, observa-se uma grande uniformidade nos valores obtidos, verificando-se, no entanto, uma dependência destes com o tempo de irradiação de cada amostra. Deste modo, observa-se que para tempos de irradiação mais baixos se obtêm valores mais baixos para a capacidade de inchaço. Tal facto pode ser explicado pela introdução de NIPAAm no gel e pelo facto de, a 25°C, o copolímero de comportar como um composto hidrofílico, aumentando a hidrofiliidade total do sistema. No entanto, as diferenças, tal como esperado, não são demasiado significativas.

De seguida foi determinado, matematicamente, qual o tipo de difusão observado em cada caso. Para tal, recorreu-se à equação seguinte:

$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = k \cdot t^n \quad (3.2)$$

Onde M_t é a massa de água absorvida ao longo do tempo t , M_{∞} a massa de água total imobilizada no interior do sistema, k uma constante e n o expoente característico do tipo de difusão. Para se poder representar graficamente e mais facilmente encontrar os valores procurados, é necessário reorganizar a expressão anterior, logaritmando-a, obtendo a expressão seguinte:

$$\ln \left[\frac{M_t}{M_{\infty}} \right] = \ln(k) + n \cdot \ln(t) \quad (3.3)$$

Deste modo, representando-se graficamente $\ln[M_t/M_{\infty}]$ em função de $\ln(t)$ e efectuando a respectiva regressão linear dos gráficos encontrados, podemos facilmente encontrar os valores de n . Esta equação é no entanto válida apenas para os primeiros 60% do total libertado / absorvido (Peppas, 1985). De acordo com os valores obtidos para n , e com a geometria do sistema, podemos definir três tipos distintos de difusão:

- $n=0,5$ — Libertação do tipo Fickiano, onde a principal *driving-force* para a difusão da água é o gradiente de concentrações entre o exterior e o interior do gel;
- $n=1$ — Libertação colectiva, onde é a degradação do polímero a principal *driving-force* de todo o processo difusional;
- $-0,5 < n < 1$ — Libertação não-Fickiana, onde ambos os casos anteriores se encontram presentes (Peppas, 1985).

Os valores obtidos anteriormente, foram logaritmizados e efectuada a respectiva regressão linear, determinando-se de seguida o respectivo expoente característico. A figura seguinte apresenta um exemplo para o sistema 1.

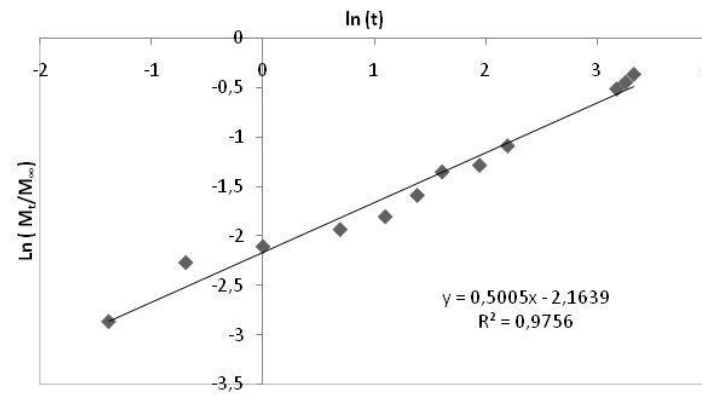


Figura 3.22 — Regressão linear para os valores logaritmizados de absorção de água do sistema 1 a 25°C.

Na figura anterior observa-se que os valores obtidos apresentam um padrão predominantemente linear, obtendo-se um valor para o coeficiente de correlação linear próximo da unidade. Em relação ao valor de n , este apresenta um valor próximo de 0,5, revelando uma difusão de água para o interior do sistema predominantemente Fickiana. (Peppas, 1985).

A tabela seguinte resume todos os valores para os expoentes característicos da difusão de água e coeficientes de correlação para todos os sistemas de base Dextrano testados.

Tabela 3.IV — Resultados obtidos para os expoentes característicos da difusão de água e coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Dextrano, a 25°C

	<i>n</i>	Coefficiente de Correlação
Sistema 1	0,500	0,976
Sistema 2	0,517	0,988
Sistema 3	0,520	0,989
Sistema 4	0,525	0,991
Sistema 5	0,527	0,985

A Tabela 3.IV mostra que todos os valores obtidos para o expoente característico da difusão de água, durante a absorção da mesma pelo polímero, foram semelhantes para todos os sistemas, encontrando-se próximos de 0,5. Para o coeficiente de correlação os valores obtidos foram próximos da unidade, permitindo concluir que a aproximação linear efectuada foi a correcta. Estes valores, tal como referido anteriormente, permitem verificar que a absorção de água ocorre predominantemente de forma difusional para o interior dos géis.

Um estudo semelhante foi efectuada a temperaturas mais elevadas de forma a avaliar a influência da mesma nesta característica. A Figura 3.23 mostra os resultados obtidos para a absorção de água para todos os sistemas colocados a 37°C.

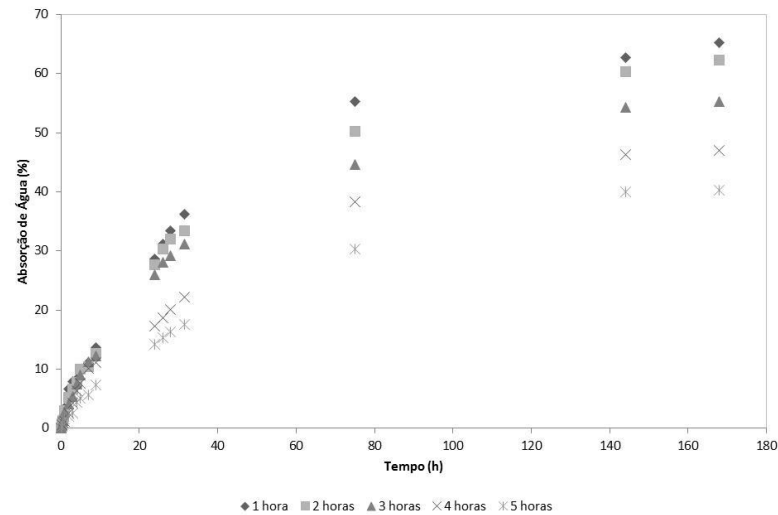


Figura 3.23 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano, a 37°C.

Na figura anterior observa-se que, tal como esperado, todos os sistemas se comportam como hidrogéis, apresentando capacidades de absorção de água superiores a 10%, variando entre os 40 e 65%. No entanto, comparativamente aos valores obtidos a 25°C verifica-se uma variação significativa dos mesmos, ocorrendo uma diminuição destes quando os sistemas se encontram a temperaturas superiores à temperatura crítica anteriormente determinada.

Para além disso, observa-se que o sistema que apresenta o menor valor de absorção a 37°C corresponde ao sistema com maior concentração de NIPAAm e que a temperaturas inferiores apresentava maiores absorções de água. Deste modo, e ao contrário do que sucedia a temperaturas inferiores à LCST, observa-se que a capacidade de absorção de água vai diminuindo com o aumento do tempo de irradiação e com o conseqüente aumento da concentração em NIPAAm. Este factor mostra claramente a influência da temperatura no comportamento de cada gel. A gelificação da NIPAAm introduzida no sistema (após a sua polimerização) leva a um

aumento da hidrofobicidade do gel, devido principalmente à diminuição das ligações de hidrogénio das moléculas de PNIPAAm com as do meio, nomeadamente a água.

Para além disso, a agregação das camadas de PNIPAAm impedem também a entrada das moléculas de água para o interior do gel, formando uma barreira neste. Deste modo, ocorre uma diminuição da capacidade de absorver e reter água no interior das mesmas. Não é, pois, de estranhar que os sistemas com maior tempo de irradiação, e conseqüente maior concentração em NIPAAm, sejam os que mostrem uma maior variação nos valores de absorção de água dos 25°C para os 37°C. Para além disso, é possível observar menor homogeneidade dos valores obtidos para todos os sistemas, factor que mostra também a influência das diferentes concentrações de NIPAAm em cada gel obtido.

Vários estudos com Dextrano e PNIPAAm verificaram conclusões semelhantes, nomeadamente no facto de ocorrerem diminuições significativas com o aumento da temperatura do sistema acima da LCST (Van Tomme & Hennink, 2007).

De forma idêntica, também para estes resultados foi efectuado um estudo para determinar os expoentes característicos da difusão de cada sistema. A figura seguinte mostra o resultado obtido para o sistema 1, a 37°C.

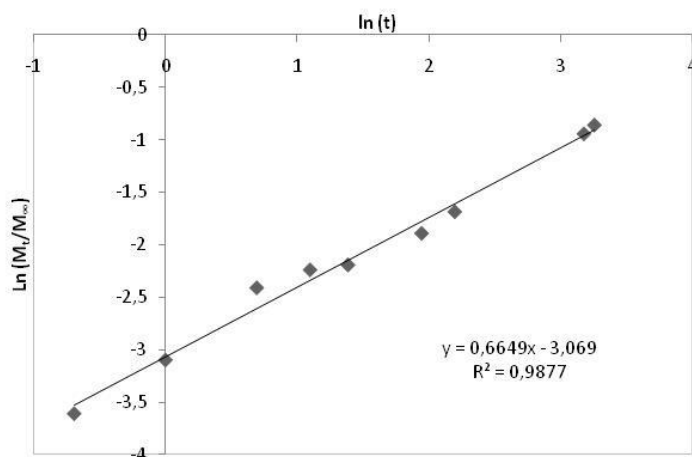


Figura 3.24 — Regressão linear para os valores logaritmizados de absorção de água do sistema 1, a 37°C.

Da observação da figura anterior, e tal como sucedia para os mesmos sistemas a 25°C, verifica-se um comportamento aproximadamente linear quando logaritizados, traduzido por valores de coeficientes de correlação próximos da unidade. Na tabela seguinte encontram-se resumidos os valores obtidos para coeficientes de difusão e de correlação para todos os sistemas.

Tabela 3.V — Resultados obtidos para os expoentes característicos da difusão de água e coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Dextrano, a 37°C.

	<i>n</i>	Coefficiente de Correlação
Sistema 1	0,665	0,988
Sistema 2	0,677	0,985
Sistema 3	0,692	0,977
Sistema 4	0,701	0,979
Sistema 5	0,711	0,992

Tal como referido anteriormente, observa-se que todos os sistemas apresentam coeficientes de correlação próximos da unidade, permitindo concluir que a aproximação efectuada foi bem sucedida.

Em relação aos valores obtidos para *n*, observa-se que estes se encontram compreendidos entre os 0,66 e os 0,71. Comparativamente, estes valores são superiores aos encontrados para os mesmos sistemas a 25°C. Este aumento dos valores obtidos revela que o processo de difusão se torna mais dependente da estrutura do gel, e da sua degradação e relaxação das cadeias, ou seja, mais dependente da própria temperatura a que se realizam os ensaios. Desta forma se justificam os elevados valores obtidos para o sistema 5, que apresenta maior concentração em NIPAAm na sua estrutura.

Seguidamente, foi efectuado o estudo referente à libertação de água dos géis. Este estudo permitiu verificar a capacidade do gel em libertar água do seu interior e, conseqüentemente, de hidratar zonas onde ocorresse a aplicação do mesmo, tal como pele no caso de queimados. Para além disso, os testes de libertação de água permitem determinar com rigor os valores para a capacidade de absorção de água, dado que é através destes que se determina com mais rigor qual o peso do

polímero totalmente inchado, aplicando-se posteriormente a expressão 2.1 apresentada na secção 2.3.5. Os ensaios foram efectuados após os de absorção, por colocação dos géis ao ar livre e à temperatura de 25°C. A figura seguinte apresenta os resultados obtidos para todos os sistemas estudados. Os resultados foram normalizados por forma a poder-se comparar a evolução de todos.

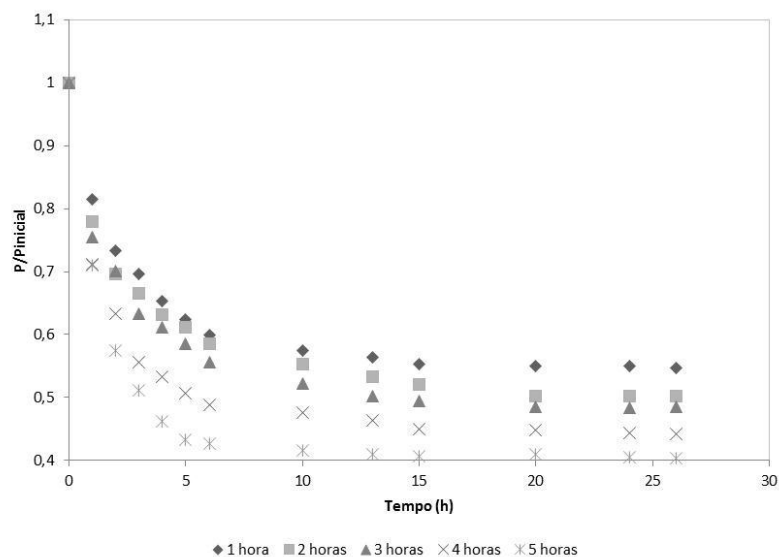


Figura 3.25 — Libertação de água de todos os sistemas de base Dextrano, a 25°C.

Na figura anterior observa-se que a libertação de água ocorre de forma mais rápida na fase inicial do ensaio, sendo que praticamente não ocorre qualquer alteração na libertação de água a partir da 15.^a hora de ensaio. Para além disso, verifica-se que a quantidade de água libertada varia com o tempo de irradiação de cada amostra, sendo o sistema com maior tempo de irradiação aquele que apresentou uma maior quantidade de água libertada, cerca de 60% do total introduzido.

Kumashiro (Kumashiro *et al*, 2004) sintetizou géis de Dextrano com PNIPAAm com recurso a modificação do polissacarídeo e a posterior polimerização por

radiação, tendo obtido valores semelhantes para a capacidade de libertação de água, tanto em percentagem retida no interior, como no tempo em que ocorreu a libertação de água.

Para a determinação rigorosa do peso do gel totalmente inchado, foi necessário efectuar uma regressão linear aos valores obtidos para os primeiros 10 minutos de libertação, determinando-se, através da recta obtida, qual o peso do composto inchado. A tabela seguinte apresenta todos os resultados obtidos para os diferentes sistemas.

Tabela 3.VI — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Dextrano.

Sistema	Capacidade de inchaço (%)
1	168
2	177
3	185
4	191
5	205

Da tabela anterior é possível verificar que todos os valores determinados matematicamente estão de acordo com os obtidos durante os ensaios de absorção de água. No entanto, observa-se que estes não são valores idênticos, dado que para os valores obtidos na absorção de água alguma libertação ocorreu entre o fim do ensaio e a medição do peso da amostra. No entanto, globalmente, os valores são semelhantes, observando-se uma maior capacidade de absorção de água para o sistema com maior tempo de irradiação. Comparativamente a outros estudos com os mesmos materiais (Kumashiro *et al*, 2001), observaram-se que os valores aqui obtidos se encontravam acima dos encontrados por estes autores, sendo que, no entanto, nos ensaios por eles realizados, o monómero foi previamente modificado

antes da sua co-polimerização de enxerto, podendo este factor ter contribuído para as diferenças verificadas.

Um estudo idêntico foi efectuado a 37°C para verificar a influência da temperatura no comportamento final do sistema. A Figura 3.28 apresenta os resultados obtidos para todos os sistemas de base Dextrano.

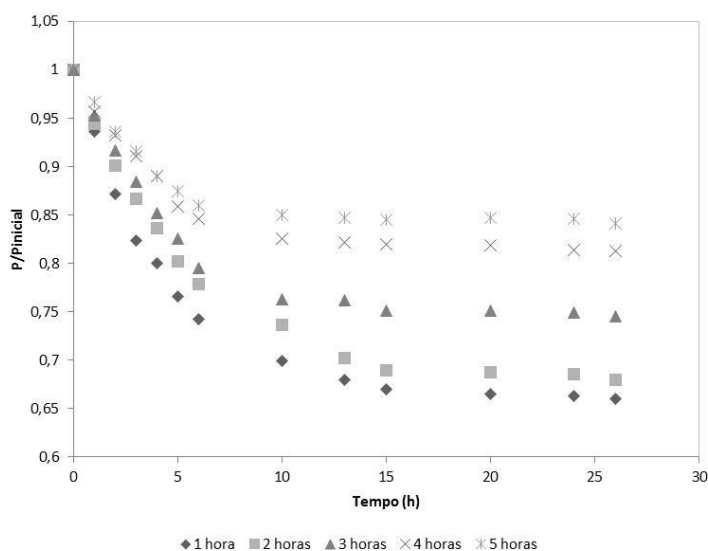


Figura 3.26 — Libertação de água dos sistemas de base Dextrano, a 37°C.

Mais uma vez, e tal como se observou para a absorção de água, verifica-se uma diferença acentuada nos resultados obtidos a temperaturas superiores a LCST denotando uma clara dependência das propriedades com a temperatura. Desta forma, observa-se que, em todos os sistemas, se verificou uma menor libertação de água para um período de tempo idêntico. Observaram-se variações na ordem dos 50%. Tal facto pode ficar a dever-se à gelificação da PNIPAAm na amostra devido à temperatura, deste modo impedindo a saída de água do interior do sistema. De facto, verifica-se que quanto maior o tempo de irradiação de cada amostra, e conseqüente aumento da concentração de PNIPAAm no gel, menor a quantidade de

água libertada pela amostra. Deste modo, o sistema 5 apresenta a menor libertação de água de todos os sistemas, contrastando com os resultados obtidos a baixas temperaturas. Esta variação significativa permite, pois, de acordo com a concentração de PNIPAAm no sistema e com a libertação de água pretendida, controlar a libertação do hidrogel e a consequente hidratação da zona afectada.

Foi também determinada a capacidade de absorção de água por via matemática, apresentando-se na tabela seguinte os resultados.

Tabela 3.VII — Valores matemáticos obtidos para a absorção de água a 37°C.

Sistema	Capacidade de Inchaço (%)
1	67
2	64
3	57
4	48
5	41

Tal como se verificou para a temperatura de 25°C, também neste sistema se observou uma semelhança entre os valores obtidos experimentalmente e os valores matemáticos. No entanto, e em consonância com o caso anterior, também a 37°C os valores matemáticos são ligeiramente superiores aos experimentais, podendo, no entanto, explicar-se a diferença da mesma forma que para os géis a 25°C.

3.3.5.2. Sistemas de base Quitosano

Tal como nos sistemas de base Dextrano, um estudo igual ao apresentado na secção anterior foi efectuado para os sistemas de base Quitosano. Primeiramente, foi determinada a variação do peso colocada em atmosfera saturada de água a 25°C e determinada a capacidade de absorção de água. Os resultados encontram-se na Figura 3.27.

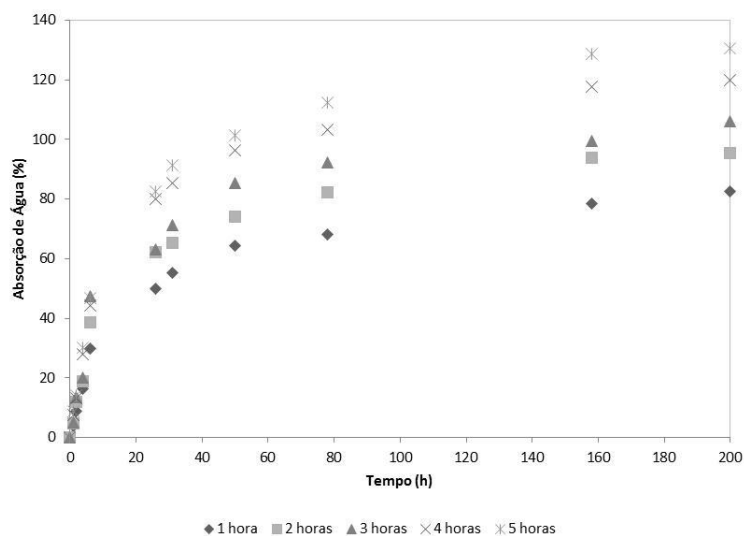


Figura 3.27 — Absorção de água para os sistemas de base Quitosano a 25°C.

Na figura anterior verifica-se que todos os sistemas apresentam valores elevados de absorção de água, variando entre os 80 e os 130% aproximadamente, o que permite classificar todos os sistemas como hidrogéis. Verifica-se, no entanto, que os valores obtidos para os sistemas de Quitosano, em iguais condições, são inferiores aos dos sistemas de base Dextrano. Este facto era esperado, uma vez que os polímeros base apresentam hidrofílicidades distintas, sendo que o Quitosano, por natureza, é o polímero menos hidrofílico dos dois, apresentando por isso, menor capacidade de absorção de água. Para além disso, e dada a elevada diferença no peso molecular dos dois polissacarídeos, esta variação também era de esperar dado que para o Dextrano existe um maior número de grupos Hidroxilo capazes de formar ligações de Hidrogénio com o solvente, permitindo maiores capacidades de absorção de água. No entanto, e apesar das diferenças nos valores, também nestes se observa que o sistema com menor tempo de irradiação, e conseqüente menor concentração de PNIPAAm é o sistema que apresenta menor capacidade de absorção de água.

Mais uma vez, a explicação para este facto pode ser dada com o aumento do afastamento médio das cadeias do polissacarídeo com o aumento da concentração de PNIPAAm, o que permite uma maior retenção de água no interior e, conseqüente, aumento da capacidade de inchaço.

De forma idêntica foi efectuado a logaritmização dos valores de forma a obter os expoentes característicos da difusão de água para cada sistema. A tabela seguinte resume os resultados obtidos.

Tabela 3.VIII — Resultados obtidos para os expoentes característicos da difusão de água e coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Quitosano, a 25°C.

	<i>n</i>	Coefficiente de Correlação
Sistema 6	0,500	0,903
Sistema 7	0,503	0,888
Sistema 8	0,519	0,876
Sistema 9	0,524	0,908
Sistema 10	0,538	0,918

Tal como nos sistemas de Dextrano, também os de Quitosano apresentaram valores para *n* muito próximos de 0,5, indicativo de uma absorção de água predominantemente de forma difusional (Peppas, 1985). Podemos pois concluir que a *driving force* do processo de absorção de água é a diferença na concentração entre o interior e o exterior do gel. No entanto, com o aumento do tempo de irradiação verifica-se, também neste caso, um aumento do valor do coeficiente, traduzindo um pequeno afastamento do modelo difusional em detrimento do relaxamento das cadeias poliméricas.

Também para estes sistemas foi efectuado o estudo semelhante, mas a 37°C de forma a verificar a variação desta propriedade com o aumento da temperatura. O estudo foi efectuado envolvendo todos os sistemas de base Quitosano anteriormente estudados. A Figura 3.28 apresenta a evolução da percentagem de água absorvida por cada sistema em função do tempo de ensaio.

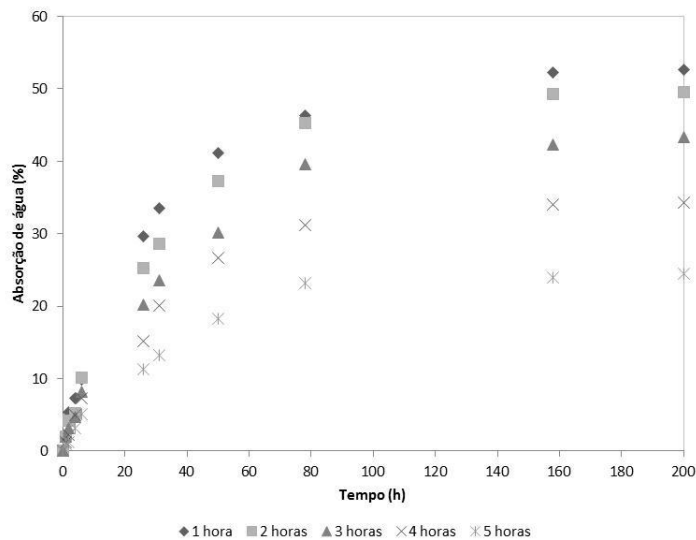


Figura 3.28 — Evolução da porcentagem de água absorvida por cada sistema a 37°C.

Como é possível verificar na figura anterior, e tal como sucedia para os sistemas de base Dextrano, existe uma clara diferença entre o comportamento apresentado por cada sistema a 25°C e a 37°C denotando uma clara dependência dos sistemas em relação à temperatura a que se encontram submetidos. Em primeiro lugar, observa-se uma diminuição acentuada da porcentagem de água absorvida por cada sistema quando colocado a uma temperatura superior à LCST determinada. É ainda de salientar que, de novo, as diferenças se acentuam mais quando aumenta o tempo de irradiação e, conseqüentemente, a porcentagem de NIPAAm introduzida no gel final. Assim, verifica-se que para o sistema 6, com apenas 1 hora de irradiação, a diminuição dos valores de absorção é da ordem dos 20%, enquanto para o sistema 10, com 5 horas de irradiação, essa diferença passa a ser de 78%, aproximadamente. O aumento de PNIPAAm e a conseqüente termodependência causada por este podem ser a explicação para esta diferença tão acentuada, uma vez que, quanto maior concentração de PNIPAAm no gel, maior a hidrofobicidade do sistema final e

menor a absorção final de água. Para além disso, é possível observar ainda que a absorção de água se processa de forma mais acelerada do que para o caso anterior, ocorrendo a absorção final de água até 80 horas após o início do ensaio, ao contrário do que se passa a temperaturas inferiores, onde a absorção total pelo sistema ocorre ao fim de 200 horas.

Para a modelização, os resultados obtidos foram os que se apresentam na tabela seguinte:

Tabela 3.IX — Resultados obtidos para os expoentes característicos da difusão de água e coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Quitosano, a 37°C.

	<i>n</i>	Coefficiente de Correlação
Sistema 6	0,597	0,952
Sistema 7	0,614	0,958
Sistema 8	0,620	0,970
Sistema 9	0,632	0,952
Sistema 10	0,654	0,951

Mais uma vez, e em consonância com os resultados obtidos anteriormente, verifica-se que o método de linearização se adequa aos valores obtidos experimentalmente, traduzindo-se esse facto por coeficientes de correlação próximos da unidade. Relativamente aos resultados para o expoente característico de difusão de água nos sistemas testados, observa-se que estes valores são comparativamente mais elevados do que os obtidos a 25°C.

Em seguida, e de forma idêntica ao sucedido para os sistemas de base Dextrano, foi efectuado o estudo de libertação de água para todos os sistemas. Os resultados para os sistemas colocados à temperatura de 25°C encontram-se na figura seguinte:

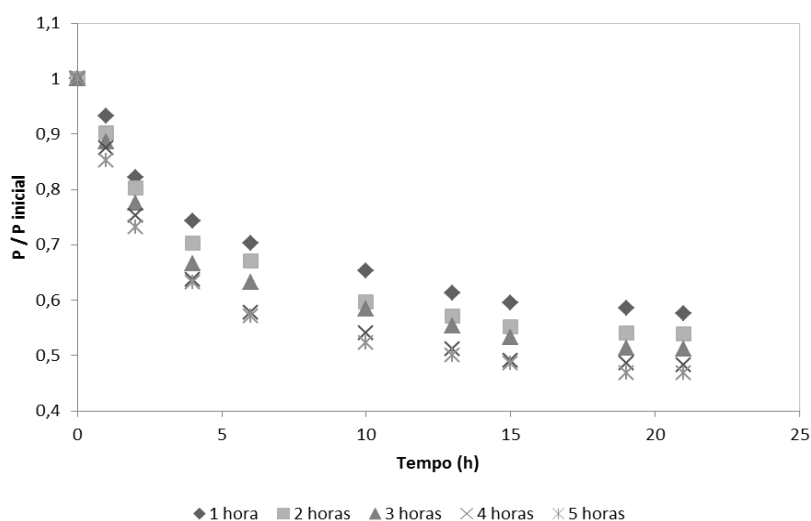


Figura 3.29 — Liberação de água de todos os sistemas de base Quitosano, a 25°C.

Na figura anterior é possível verificar que todos os sistemas apresentam um comportamento semelhante e esperado, onde a principal fase de libertação ocorre nos momentos iniciais do ensaio, seguindo-se um período de estabilização. Este padrão assemelha-se também ao obtido anteriormente para os sistemas de Dextrano. É possível verificar também que, mais uma vez, os sistemas com menor tempo de irradiação apresentam valores mais baixos de libertação de água, podendo este resultado ser explicado de forma semelhante ao caso do Dextrano. No entanto, observa-se, que os valores de libertação de água são ligeiramente inferiores quando comparados com os do Dextrano, podendo este facto ser devido, mais uma vez, à diferença de hidrofiliidades dos dois componentes-base do hidrogel, levando a que ocorra uma menor libertação de água no caso do Quitosano.

Recorrendo à expressão 2.1 apresentada na secção 2.3.5, foi possível determinar rigorosamente quais os valores para a capacidade de absorção de água de cada sistema, estando esses resultados compilados na tabela seguinte:

Tabela 3.X — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Quitosano, a 25°C.

Sistema	Capacidade de inchaço (%)
6	87
7	101
8	113
9	125
10	136

Da tabela anterior observa-se que, comparativamente com os resultados obtidos experimentalmente e antes apresentados, os valores obtidos são ligeiramente superiores. Tal facto pode ser explicado, tal como no caso do Dextrano, por ocorrer alguma libertação de água entre o fim do ensaio e a medição do peso de cada gel, levando isso a uma redução do mesmo. No entanto, sendo esta diferença de valores mínima pode ser ignorada.

Relativamente aos resultados propriamente ditos, observa-se, tal como para o caso dos sistemas de Dextrano, um aumento gradual da capacidade de absorção de água com o tempo de irradiação. Tal facto pode ser explicado pelo aumento da percentagem de copolímero introduzido no sistema, já comprovado pelas análises elementares anteriormente apresentadas na secção 3.3.1. Também em estudos previamente efectuados se observou comportamentos semelhantes, com o aumento da capacidade de inchaço com o aumento da percentagem de copolímero introduzido (Cai *et al*, 2005) É de salientar, mais uma vez, que, para as mesmas condições de reacção e mesmo tempo de irradiação da amostra, os valores obtidos para os sistemas de base Quitosano são inferiores aos obtidos para os sistemas de base Dextrano. Esta diferença, já esperada, pode ser justificada pela diferença significativa de hidroflicidade de ambos os materiais e pelos respectivos pesos moleculares diferentes. A diferença entre os sistemas nas mesmas condições situa-se

entre os 30 e os 45%, sendo que ocorre uma redução gradual entre ambos os resultados com o aumento do tempo de irradiação.

Para os sistemas a 37°C, os resultados obtidos para a libertação de água foram os que se apresentam na Figura 3.30.

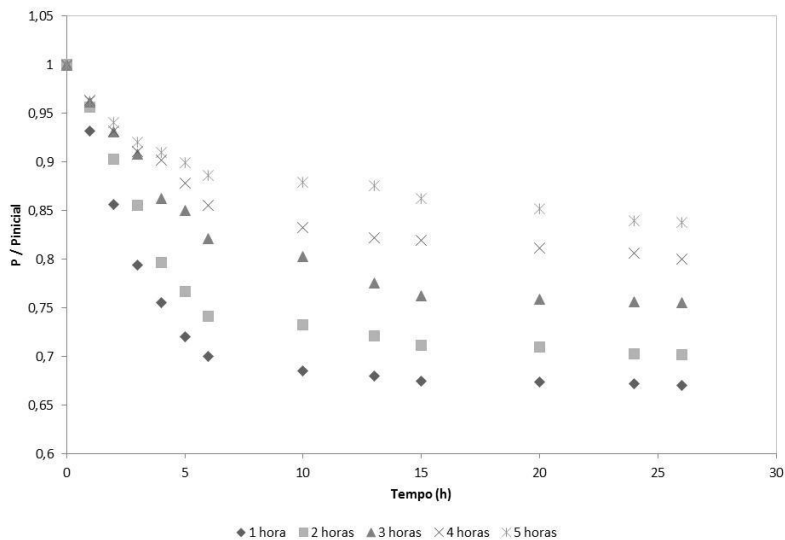


Figura 3.30 — Libertação de água de todos os sistemas de base Quitosano, a 37°C.

Mais uma vez se observam diferenças substanciais nos resultados obtidos para os mesmos sistemas a temperaturas diferentes, denotando o carácter termossensível dos géis obtidos. É possível verificar que a libertação ocorre de forma mais rápida, dada a presença de PNIPAAm nos géis. A mudança de estado da mesma leva à libertação acelerada das moléculas de água próximas da superfície do gel, enquanto ocorre a retenção das restantes no interior do sistema. Deste modo se justificam os baixos valores para o total de água libertada quando comparada com os mesmos sistemas a 25°C. Este factor é mais salientado ainda quando se verifica que são os sistemas com maior tempo de irradiação, e conseqüente maior concentração

em PNIPAAm, que apresentam as libertações mais baixas de água, ao contrário do que sucedia a temperaturas mais elevadas.

Os valores matemáticos obtidos através do recurso à expressão 2.1 são os apresentados na tabela seguinte:

Tabela 3.XI — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Quitosano, a 37°C.

Sistema	Capacidade de inchaço (%)
6	71
7	61
8	50
9	39
10	31

Mais uma vez, e em consonância com os resultados previamente apresentados, se verifica que os valores matemáticos obtidos são ligeiramente superiores aos obtidos durante os ensaios de absorção de água já discutidos anteriormente. De igual forma, a justificação para esta situação é idêntica à apresentada para essas diferenças nos casos anteriores. É de salientar que, tal como acontecia nos resultados experimentais, também nestes se observa que os sistemas com maior tempo de irradiação de base de Quitosano apresentam valores de absorção de água superiores aos de base Dextrano, o que contraria o que foi dito anteriormente relativamente à hidrofobicidade de cada material-base. No entanto, esta variação pode ser justificada pelo facto de os sistemas de base Dextrano apresentarem maiores valores de NIPAAm do que os de Quitosano, aumentando a hidrofobicidade de todo o sistema, o que leva ao resultado obtido. Deste modo, os resultados obtidos para o Quitosano são cerca de 5% a 10% superiores em relação aos de Dextrano.

3.3.6. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície

A determinação dos ângulos de contacto da água com o material permite saber qual o grau de hidrofobicidade/hidrofilicidade de cada sistema. Para além disso, a determinação dos ângulos de contacto e das respectivas energias de superfície constitui uma forma de avaliar a interacção entre as duas superfícies em estudo, líquida e sólida, e, por comparação com outras superfícies sólidas, a interacção entre os dois sólidos. Esta propriedade é muito importante na caracterização de um sistema deste género, pois permite correlacionar propriedades tão distintas como a adesividade ou a biocompatibilidade de um dado material (Kwot *et al*, 2005).

Genericamente, um ângulo de contacto de um determinado líquido com uma superfície é definido como o ângulo obtido entre a superfície sólida e a tangente à intersecção da gota de líquido com a respectiva superfície (Lugscheider & Bobzin, 2001). A figura seguinte esquematiza essa mesma determinação.

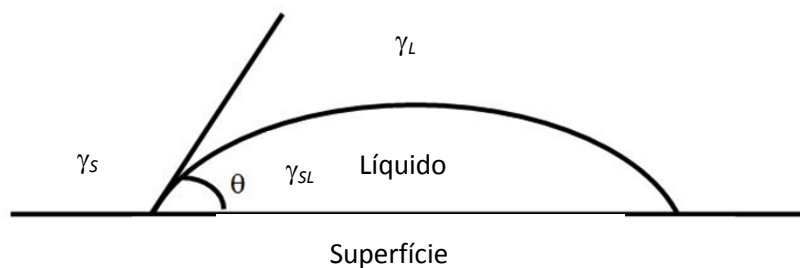


Figura 3.31 — Esquema para a determinação de ângulos de contacto (Packam, 2003)

O valor do ângulo de contacto varia consoante as tensões superficiais da superfície onde é efectuado o teste e a tensão do próprio líquido utilizado no ensaio. O resultado final depende da relação entre duas forças básicas: a força adesiva, que permite à gota espalhar-se pela superfície, e a força coesiva, que leva o líquido a formar uma gota mais esférica, diminuindo a sua área de contacto com a superfície.

A tensão superficial de um material pode, então, ser calculada após a determinação dos ângulos de contacto deste com um líquido, recorrendo à expressão:

$$\gamma_S = \gamma_{SL} + \gamma_L \cos\theta \quad (3.4)$$

Onde γ_s representa a tensão superficial entre o sólido e o vapor saturado do líquido, γ_{sl} a tensão interfacial entre o líquido e o sólido e γ_l a tensão superficial entre o líquido e o respectivo vapor saturado.

Owens, Wendt, Rabel e Kaelble concluíram que a tensão interfacial entre o líquido e o sólido é composta por duas interacções distintas, uma de carácter polar e outra dispersiva (Owens & Wendt, 1969). A primeira encontra-se mais associada a interacções entre dipolos permanentes e suas interacções com o meio, enquanto a segunda se encontra mais relacionada com dipolos instantâneos, induzidos pelas flutuações nas cargas das moléculas constituintes do líquido. É a soma de ambas as interacções que permite determinar cada energia superficial, quer do líquido quer do sólido.

$$\gamma_S = \gamma_S^D + \gamma_S^P \quad \gamma_L = \gamma_L^D + \gamma_L^P \quad (3.5)$$

Em que γ_s^D, γ_l^D representam a componente dispersiva do sólido e do líquido respectivamente e γ_s^P, γ_l^P a componente polar do sólido e do líquido. A componente interfacial pode então ser determinada recorrendo à seguinte expressão:

$$\gamma_{SL} = \gamma_S + \gamma_L - 2 \left(\sqrt{\gamma_S^D \gamma_L^D} + \sqrt{\gamma_S^P \gamma_L^P} \right) \quad (3.6)$$

Substituindo este resultado na equação inicial, obtém-se a seguinte expressão:

$$\gamma_S = \gamma_S + \gamma_L - 2 \left(\sqrt{\gamma_S^D \gamma_L^D} + \sqrt{\gamma_S^P \gamma_L^P} \right) + \gamma_L \cos\theta \quad (3.7)$$

Reorganizando a equação anterior, é possível a obtenção de uma nova equação de forma:

$$y = mx + b \quad (3.8)$$

que permite a sua representação gráfica por forma a facilitar a obtenção dos parâmetros relevantes e, deste modo, a determinar as componentes dispersiva e polar do sólido através da recta obtida. Para este caso:

$$y = \frac{(1 + \cos\theta)}{2} \frac{\gamma_L}{\sqrt{\gamma_L^D}} \quad (3.9)$$

$$m = \sqrt{\gamma_S^P} \quad (3.10)$$

$$b = \sqrt{\gamma_S^D} \quad (3.11)$$

Assim, representando a expressão equivalente a y em função de x consegue-se calcular a componente polar do sólido através do declive da recta obtida e a componente dispersiva do mesmo pela ordenada na origem da recta. Para que tal seja alcançado, é necessário determinar ângulos de contacto de pelo menos dois

líquidos de energia superficial conhecida no sólido de energia superficial desconhecida.

3.3.6.1. Sistemas de base Dextrano

A tabela seguinte apresenta os valores obtidos para os ângulos de contacto entre a água e os diferentes materiais:

Tabela 3.XII- Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água, a 25°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
1	68,9
2	65,9
3	62,6
4	60,6
5	55,8

Da tabela anterior verifica-se que os ângulos de contacto obtidos com a água apresentam valores relativamente baixos, mostrando a hidroflicidade de cada sistema. Este resultado está de acordo com o esperado, considerando os resultados obtidos para a absorção de água já anteriormente apresentados. Mais uma vez se salienta uma diminuição nos valores obtidos para os ângulos de contacto com o aumento do tempo de irradiação, denotando um aumento na hidroflicidade do sistema, resultado também previsto pelos valores obtidos em caracterizações anteriormente apresentadas.

Com o aumento da temperatura, e dado o carácter termodependente dos géis obtidos, observaram-se diversas alterações aos valores do ângulo de contacto com a água obtido. Os resultados encontram-se na Tabela 3.XIII.

Tabela 3.XIII — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água, a 37°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
1	110,5
2	113,5
3	119,5
4	125,3
5	137,5

De acordo com a Tabela 3.XII, verifica-se que todos os sistemas apresentam valores elevados para o ângulo de contacto com a água determinado, denotando um aumento na sua hidrofobicidade, resultado semelhante ao obtido para a capacidade de absorção de água apresentada na secção 3.3.5. Mais uma vez se evidencia o carácter termodependente dos géis obtidos, uma vez que a um aumento da temperatura para valores superiores aos da LCST determinada se observa uma diferença drástica da hidrofobicidade do material. Esta evidência é ainda mais salientada quando se verifica que com o aumento da concentração de PNIPAAm no sistema, de acordo com o tempo de irradiação da amostra, maior é a diferença entre os resultados obtidos para as temperaturas testadas.

Para a determinação dos valores para a energia de superfície de cada gel foi efectuada a medição dos valores dos ângulos de contacto de cada gel com líquidos com tensões superficiais distintas e bem determinadas. Neste caso, foram utilizados quatro líquidos distintos: água, formamida, etilenoglicol e propilenoglicol. Deste modo, foram determinadas as componentes dispersiva e polar de cada gel e posteriormente a energia de superfície dos mesmos, recorrendo à relação Owens-Wendt-Rabel e Kaelble já descrita nesta secção, comparando-a com a da pele por forma a determinar a interacção destes com esta (Venkatraman & Gale, 1998). Os resultados encontram-se na tabela seguinte:

Tabela 3.XIV — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície, para 25°C.

Sistema	Energia de Superfície (mN/m)	γ_s^P (mN/m)	γ_s^D (mN/m)
1	29,3	21,1	8,2
2	29,7	22,0	7,7
3	30,4	23,1	7,3
4	31,6	24,6	7,0
5	32,3	25,5	6,8
Pele	38-56	-	-

Como se pode observar na tabela anterior, os resultados obtidos mostram que, para todos os géis estudados, a componente polar destes é superior à componente dispersiva. Este resultado era esperado dada a relativa hidrofiliçidade apresentada por todos os sistemas em caracterizações anteriores. Observa-se por isso, um incremento desta componente com o aumento do tempo de irradiação, mais uma vez atribuído ao aumento da hidrofiliçidade do sistema. Este resultado demonstra que as interacções observadas entre o líquido e o gel são interacções mais entre dipolos permanentes e induzidos ou mesmo entre ligações de hidrogénio. Para além disso, observa-se que os valores obtidos para a energia de superfície são inferiores, em todos os casos, aos determinados para a pele. Esta não apresenta um valor fixo de energia de superfície mas, sim, uma gama de valores variáveis consoante as condições de temperatura e humidade. O facto de os valores da energia de superfície serem inferiores aos da pele permite afirmar que as forças adesivas do gel à pele serão superiores às forças coesivas do próprio gel. Tal facto vai permitir a adesão e o espalhamento do gel pela pele.

Para o estudo a 37°C procedeu-se de modo semelhante ao anterior, sendo que os resultados obtidos foram os seguintes:

Tabela 3.XV — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.

Sistema	Energia de Superfície (mN/m)	γ_s^P (mN/m)	γ_s^D (mN/m)
1	24,9	16,1	8,8
2	24,7	15,6	9,1
3	24,6	15,1	9,5
4	24,5	14,6	9,9
5	24,3	14,1	10,2
Pele	38-56	-	-

Como se pode observar da tabela anterior, e comparativamente com a tabela dos valores obtidos a 25°C, verificam-se grandes diferenças de valores obtidos neste caso, tal como era de prever. Mais uma vez, a componente polar dos géis apresentou valores superiores à componente dispersiva, o que é justificado pela hidrofiliabilidade apresentada pelos géis. No entanto, é de salientar a grande diminuição do valor desta componente comparativamente com o caso anterior. Tal diferença pode ser justificada pela presença de NIPAAm, que, por gelificação, diminui as interações polares entre as moléculas do gel e as do líquido. Este resultado também se observa no aumento significativo da componente dispersiva, que, ao aumentar, está a promover uma maior coesão do gel. No entanto, e apesar destas alterações inerentes à transição térmica sofrida pelo gel, os valores obtidos para a energia de superfície permitem verificar que os géis irão, em contacto com a pele, ter um comportamento adesivo, permitindo por isso a possível libertação do fármaco na pele.

3.3.6.2. Sistemas de base Quitosano

De igual modo foi efectuado um estudo com os sistemas de base Quitosano. A tabela seguinte apresenta os valores obtidos para os ângulos de contacto com a água e os géis.

Tabela 3.XVI — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água, a 25°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
6	72,8
7	71,9
8	71,1
9	70,6
10	70,1

Da tabela anterior verifica-se que os ângulos de contacto obtidos com a água apresentam valores relativamente baixos, mostrando a hidrofiliidade de cada sistema. Comparativamente com o resultado obtido para o Dextrano, observa-se um aumento do valor do ângulo, traduzindo um aumento de hidrofobicidade, aumento esse esperado, dadas as características mais hidrofóbicas do Quitosano e, mais uma vez, pela diferença de pesos moleculares de ambos os compostos, apresentando o Dextrano, como referido, maior número de grupos Hidroxilo e conseqüente maior hidrofiliidade. Este resultado encontra-se de acordo com os resultados obtidos para a absorção de água anteriormente apresentados. Mais uma vez se salienta uma diminuição nos valores obtidos para os ângulos de contacto com o aumento do tempo de irradiação, denotando um aumento na hidrofiliidade do sistema, resultado também previsto pelos valores obtidos em caracterizações anteriormente apresentadas.

Com o aumento da temperatura, mais uma vez se observa o carácter termodependente dos géis obtidos, verificando-se diversas alterações aos valores do ângulo de contacto com a água obtido. Os resultados encontram-se na Tabela 3.XVII.

Tabela 3.XVII — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 37°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
6	100,5
7	104,3
8	106,5
9	110,5
10	118,3

De acordo com a Tabela 3.XVII, verifica-se um aumento global de todos os valores para o ângulo de contacto com a água determinado, denotando um aumento na sua hidrofobicidade, resultado semelhante ao obtido para a capacidade de absorção de água apresentada na secção 3.3.5. Tal como se verificou nessa secção, os resultados obtidos para a hidrofiliçidade do gel são mais elevados, a 37°C, para o Quitosano, uma vez que tem menos PNIPAAm na sua estrutura. Também nos ângulos de contacto com a água se observou um comportamento semelhante, obtendo-se valores para o ângulo de contacto superiores aos obtidos para o Dextrano. No entanto, o carácter termodependente dos géis obtidos continua a verificar-se para o Quitosano, dado que a um aumento da temperatura para valores superiores aos da LCST determinada, se observa uma diferença drástica da hidrofiliçidade do material. Esta evidência é ainda mais salientada quando se verifica que com o aumento da concentração de NIPAAm no sistema, de acordo com o tempo de irradiação da amostra, maior é a diferença obtida entre os resultados obtidos para as temperaturas testadas.

Para a determinação dos valores para a energia de superfície de cada gel o procedimento efectuado foi semelhante ao descrito anteriormente. Os resultados a 25°C encontram-se na tabela seguinte:

Tabela 3.XVIII- Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 25°C.

Sistema	Energia de Superfície (mN/m)	γ_s^P (mN/m)	γ_s^D (mN/m)
6	29,9	20,7	9,2
7	30,3	21,3	9,0
8	30,6	21,9	8,7
9	30,8	22,3	8,5
10	31,2	23,1	8,1
Pele	38-56	-	-

Como se pode observar na tabela anterior, os resultados mostram que, para todos os géis estudados, a componente polar destes é superior à componente dispersiva, resultado mais uma vez esperado dada a relativa hidrofiliidade apresentada por todos os sistemas em caracterizações anteriores. De salientar que, tal como anteriormente, a componente polar obtida para os géis de base Dextrano foi ligeiramente superior à obtida para estes sistemas, directamente associada ao aumento de hidrofiliidade do polissacarídeo e com o aumento de ligações de Hidrogénio entre as cadeias e o soluto devido ao elevado peso molecular. Observa-se também, um aumento desta componente polar com o aumento do tempo de irradiação, mais uma vez atribuído ao aumento da hidrofiliidade do sistema. Este resultado demonstra que as interacções observadas entre o líquido e o gel são interacções mais entre dipolos permanentes e induzidos ou mesmo entre ligações de hidrogénio. Mais uma vez, observa-se que os valores obtidos para a energia de superfície são inferiores, em todos os casos, aos determinados para a pele. Este facto

permite afirmar que as forças adesivas do gel à pele serão superiores às forças coesivas do próprio gel. Tal facto vai permitir a adesão e o espalhamento do gel pela pele.

Para o estudo a 37°C procedeu-se de modo semelhante ao anterior e os resultados obtidos foram os seguintes:

Tabela 3.XIX — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.

Sistema	Energia de Superfície (mN/m)	γ_s^p (mN/m)	γ_s^D (mN/m)
6	24,8	16,6	8,2
7	24,6	16,1	8,5
8	24,3	15,4	8,9
9	24,1	15,0	9,1
10	23,9	14,5	9,4
Pele	38-56	-	-

Como se pode observar da tabela anterior, e comparativamente com a tabela com os valores obtidos a 25°C, verificam-se grandes diferenças de valores obtidos neste caso, tal como era de prever. Mais uma vez, a componente polar dos géis apresentou valores superiores à componente dispersiva, justificado pela hidrofiliçidade apresentada pelos géis. No entanto, é de salientar a grande diminuição do valor desta componente comparativamente com o caso anterior. Tal diferença pode ser justificada pela presença de PNIPAAm, que, por aglomeração, diminui as interacções polares entre as moléculas do gel e as do líquido. Para além disso, observa-se que os valores da componente polar para os sistemas de Quitosano a 37°C são ligeiramente superiores aos obtidos para os sistemas de Dextrano em igual condição, resultado em linha com o obtido em caracterizações anteriores. A influência de PNIPAAm também se observa, mais uma vez, no aumento da componente dispersiva, que, deste modo, promove uma maior coesão do gel. No entanto, e mais uma vez, apesar destas alterações inerentes à transição térmica

sofrida pelo gel, os valores obtidos para a energia de superfície permitem verificar que os géis irão, em contacto com a pele, ter um comportamento adesivo, permitindo por isso a possível libertação do fármaco na pele.

Os resultados apresentados anteriormente caracterizam, de forma geral os sistemas sintetizados. Estas caracterizações revelam sistemas termossensíveis, capazes de apresentarem temperaturas de solução críticas inferiores distintas, permitindo a alteração de diversas características dos mesmos e, ao mesmo tempo, capacidade de aplicação destes em situações distintas, quer em medicina quer mesmo em outras áreas. Os sistemas aqui estudados apresentaram todas as características de hidrogéis com capacidade de reter uma elevada quantidade de água no seu interior, permitindo, ao mesmo tempo, a libertação desta de forma controlada. Esta propriedade é muito importante uma vez que permite a aplicação dos mesmos hidrogéis em doentes com queimaduras que necessitem, para além de um fármaco de tratamento como factor de crescimento, uma hidratação constante da zona afectada.

3.3.7. Avaliação do padrão de libertação do fármaco

A avaliação do padrão de libertação do fármaco é de vital importância para a caracterização de um sistema de libertação controlada, pois permite verificar qual a quantidade de fármaco libertada por cada sistema e a forma como essa libertação ocorre ao longo do tempo.

A espectroscopia electrónica permite, em muitos casos, determinar com relativa facilidade concentrações de diversos compostos simplesmente por medição da sua absorvância em determinados comprimentos de onda. Este facto resulta da circunstância de, para a maioria dos casos, ser relativamente simples encontrar uma relação directa entre o número de moléculas presentes na amostra e a respectiva

absorção. Foi por este motivo que, desde há vários anos, a espectroscopia electrónica se tornou o método de eleição para a determinação de concentrações de diversos componentes, nomeadamente, fármacos em solução.

Sabe-se que a intensidade da luz decai, de forma exponencial, ao atravessar qualquer amostra. A medida experimental dessa intensidade, a um comprimento de onda distinto, designa-se por «coeficiente de extinção» (ϵ), dado pela lei-base da espectroscopia, a lei de Beer-Lambert:

$$\log \frac{I_0}{I_t} = \epsilon Cl \quad (3.12)$$

onde I_0 é a intensidade da radiação incidente no composto, I_t a intensidade da radiação transmitida, C a concentração do mesmo e ℓ o comprimento da célula do espectrofotómetro. O coeficiente de extinção é uma medida do poder de absorção de cada composto pelo que se pode reformular a lei anterior escrevendo-a da seguinte forma:

$$A = \epsilon Cl \quad (3.13)$$

onde A é a absorvância ou densidade óptica do composto (Morrison & Boyd, 2009).

Deste modo, o primeiro passo para a realização dos ensaios de libertação do Ondansetron® é a determinação, através de um espectro UV-Vis, dos diferentes picos de absorção máxima correspondentes ao referido fármaco. A figura seguinte apresenta os resultados finais obtidos.

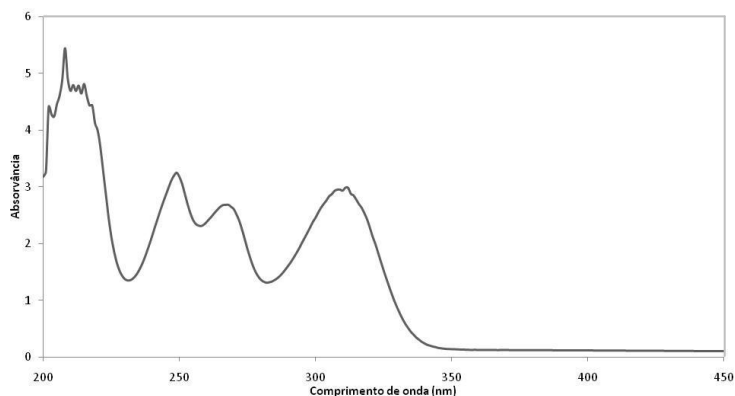


Figura 3.32 — Espectro UV-Visível do Ondansetron®.

Na figura anterior verifica-se a existência de diversas bandas a diferentes comprimentos de onda (correspondentes às várias transições electrónicas da molécula). O primeiro a $\lambda=312\text{nm}$, o segundo a $\lambda= 269\text{nm}$, outro a $\lambda= 250\text{nm}$ e finalmente um último a $\lambda=208\text{nm}$. Foi decidido efectuar o estudo utilizando o comprimento de 312 nm após ter sido realizado um estudo semelhante a todos os compostos envolvidos na síntese dos géis e verificando-se que este valor seria aquele onde interferências com absorções paralelas de outros compostos seriam mínimas.

Após a determinação do comprimento de onda a utilizar nas medições espectroscópicas, foi necessário efectuar o estudo da relação do fármaco, nomeadamente, das suas concentrações, com os valores de absorvância lidos no aparelho. Para tal, foram preparadas diversas soluções de fármaco, contendo concentrações distintas e conhecidas, e efectuadas as medições das mesmas no espectrofotómetro e lidas as absorvâncias encontradas.

Finalmente, representando graficamente a absorvância em função da concentração de fármaco, foi possível encontrar a chamada «curva-padrão», que permite relacionar qualquer absorvância lida com a concentração do fármaco obtido. A curva obtida para o Ondansetron® encontra-se na Figura 3.33.

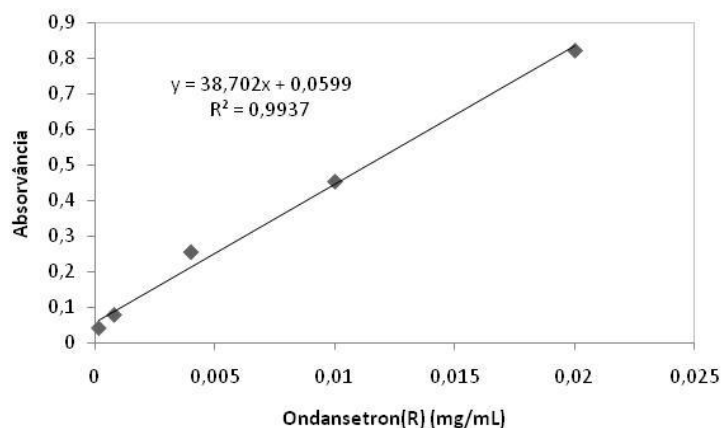


Figura 3.33 — Curva-padrão do Ondansetron®.

De forma a evitar que as radiações γ utilizadas na preparação dos géis alterassem as características do fármaco, foi decidido que, para este caso, o Ondansetron® seria introduzido nos géis por absorção de uma solução concentrada deste. Cada ampola foi seca durante 48h permitindo a recuperação do fármaco. Posteriormente, foram preparadas soluções contendo 4 mg de fármaco em 5 mL de soro fisiológico. Cada membrana foi colocada numa solução e deixadas durante 24 horas em absorção. Após estas, cada gel foi retirado e a absorvância da solução medida e comparada com a absorvância medida inicialmente. A diferença entre os dois valores obtidos permitiu determinar a quantidade efectiva de fármaco absorvido por cada gel.

3.3.7.1. Sistemas de base Dextrano

A Tabela 3.XX apresenta os valores obtidos para a quantidade de fármaco introduzido em cada sistema.

Tabela 3.XX — Valores de fármaco absorvido por cada sistema.

Sistema	<i>T = 25°C</i>	<i>T = 37°C</i>
	Fármaco Absorvido (mg/g polímero)	Fármaco Absorvido (mg/g polímero)
1	1.325	1.204
2	1.532	1.025
3	1.745	0.952
4	1.899	0.855
5	2.056	0.752

Da tabela anterior é possível verificar que os resultados obtidos para a quantidade de fármaco introduzido no gel por absorção se encontram intimamente relacionados com os resultados apresentados anteriormente para a capacidade de absorção de água. Esta conclusão vem ao encontro do esperado, dado que é através da absorção que o fármaco é colocado no sistema. Esta conclusão é também corroborada pelo carácter termossensível apresentado pelos sistemas e pelas diferenças observadas quando a temperatura era variada.

Deste modo, observa-se uma diminuição do total de fármaco introduzido no sistema com o aumento da temperatura, verificando-se também que esta redução é superior nos sistemas onde a concentração final de NIPAAm é superior. Mais uma vez, e tal como foi explicado para a absorção de água, este resultado poderá ficar a

dever-se à agregação das cadeias poliméricas de NIPAAm com o aumento da temperatura que, formando uma barreira, impedem a entrada do fármaco. Globalmente, podemos afirmar que a quantidade de fármaco introduzido em cada sistema se encontra directamente relacionado com a capacidade de absorção do meio de cada um.

Após a introdução do fármaco nos sistemas, foram efectuados os ensaios de libertação. Cada gel foi colocado numa solução de soro fisiológico, dentro de membranas de diálise por forma a evitar que fragmentos do gel influenciassem as leituras espectroscópicas da solução.

A figura seguinte apresenta os resultados obtidos para os sistemas a 25°C de temperatura.

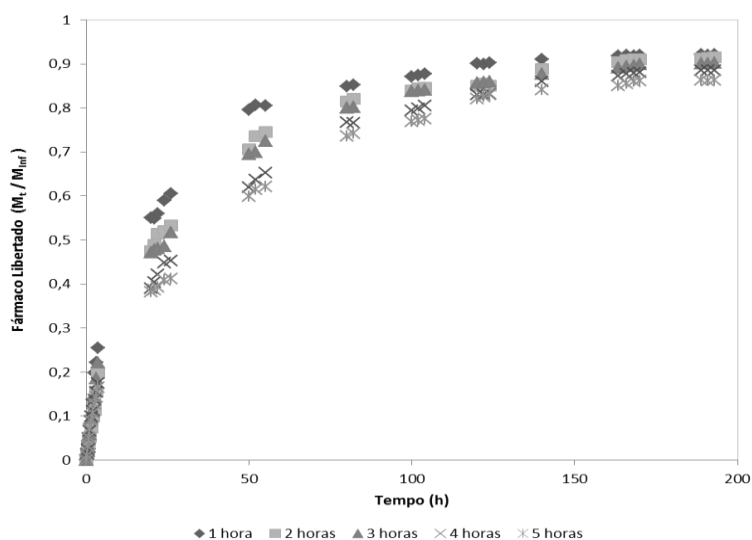


Figura 3.34 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Dextrano, a 25°C.

Na figura anterior é possível verificar que todos os sistemas sem excepção apresentam um comportamento semelhante para a quantidade de fármaco libertado. Verifica-se que todos os sistemas apresentam uma quantidade acentuada

de fármaco libertado nos momentos iniciais do ensaio. Tal resultado pode advir de dois motivos distintos: em primeiro lugar, da diferença de concentrações de fármaco entre o interior do gel e o meio envolvente, diferença que funciona como uma *driving-force* para o mecanismo de difusão, sendo mais acentuada essa difusão com o aumento na diferença de concentrações; e, em segundo lugar, da possibilidade de alguma porção do fármaco absorvido por cada sistema se encontrar à superfície sendo libertada logo que cada gel é colocado no meio difusional.

É possível, no entanto, observar diferenças nos primeiros momentos de libertação, onde os sistemas com menor tempo de irradiação apresentaram uma libertação um pouco mais acentuada do que os outros. Tal facto pode dever-se a um maior grau de reticulação devido ao aumento da quantidade de NIPAAm introduzida.

Em relação ao total libertado, é possível observar que a quantidade final foi quase a totalidade da inicialmente absorvida por cada sistema. Deste modo, todos sem excepção apresentam valores final próximos dos 90% do total inicialmente colocado.

Mais uma vez um estudo semelhante foi efectuado a 37°C e os resultados obtidos apresentados na figura seguinte:

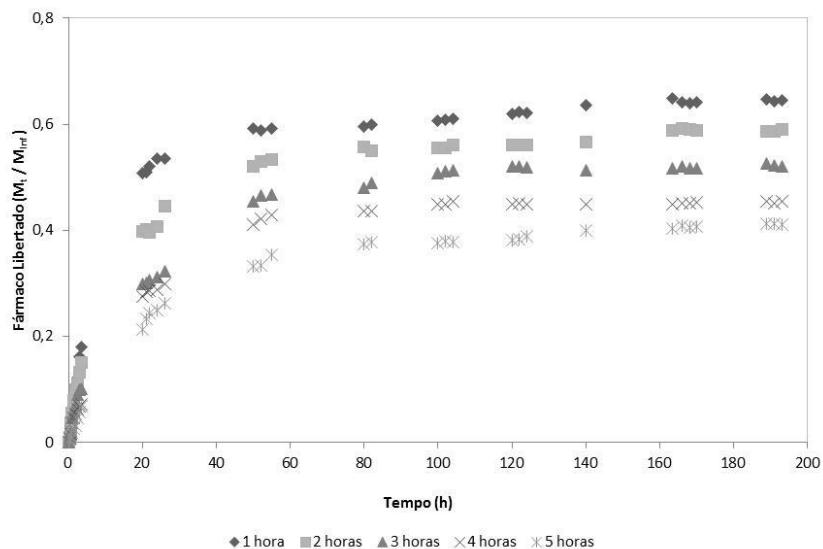


Figura 3.35 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Dextrano, a 37°C.

A figura anterior mostra uma clara diferença de comportamento de todos os géis quando colocados a uma temperatura superior à LCST, reforçando mais uma vez o carácter termossensível de todos os sistemas. Os resultados mostram ainda uma variação significativa com uma diminuição, por vezes acentuada, quer da velocidade de libertação quer da própria quantidade de fármaco libertado pelos sistemas.

As diminuições variaram entre os 30% para o sistema 1 e os 50% para o caso do sistema 5. Verifica-se que ocorre uma libertação inicial muito rápida, devido, tal como no caso anterior, à diferença de concentrações de fármaco entre o gel e o meio. No entanto, para além deste factor, um outro pode ocorrer neste segundo caso e que permite justificar os resultados iniciais. É que, quando ocorre a agregação das cadeias poliméricas devido ao aumento da temperatura, ocorre uma rápida «expulsão» do conteúdo colocado na superfície do gel devido à contracção das cadeias. Deste modo, o fármaco é impelido a libertar-se mais rapidamente.

Após esta libertação inicial, observa-se a formação de um patamar muito prolongado onde a libertação do fármaco é mínima, ao contrário do que acontecia nos sistemas a 25°C. Este resultado é em parte também justificado pelo comportamento das cadeias poliméricas de NIPAAm que, ao agregarem e contraírem, vão formar uma barreira, impedindo e retendo o conteúdo no seu interior — neste caso, o fármaco —, que assim irá ser impedido de se libertar. Deste modo, os valores obtidos para o total de fármaco libertado foram significativamente inferiores aos encontrados para os mesmos sistemas colocados a temperaturas superiores. Para além disso, verifica-se que os sistemas com maiores concentrações em NIPAAm são os que apresentam maiores variações com a modificação da temperatura, mais uma vez salientando todo o carácter termossensível do sistema.

A lei que traduz a velocidade de difusão, em estado estacionário, de acordo com o gradiente de concentrações é a 1ª Lei de Fick:

$$J_A = -D_{A,B} \frac{dC_A}{dx} \quad (3.14)$$

Onde, J_A representa o fluxo molar de A, $D_{A,B}$ o coeficiente de difusão de A em B e dC_A/dx o gradiente de concentrações de A numa dada coordenada espacial x . Dado que neste estudo não temos sistemas com gradientes de concentração constantes dado que as concentrações dentro e fora do gel se vão alterando, temos de recorrer à 2ª lei de Fick. Esta, descreve que a distribuição da concentração do soluto num sistema tem não só uma dependência espacial mas também temporal. A sua forma matemática é a seguinte:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = -D_{A,B} \frac{\partial^2 C_A}{\partial x^2} \quad (3.15)$$

Por integração da equação anterior obtemos duas equações distintas:

$$\frac{M_T}{M_\infty} = 4 \left[\frac{D \cdot t}{l^2 \cdot \pi} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (3.16)$$

e

$$\frac{M_T}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \exp\left[-\frac{\pi^2 \cdot D \cdot t}{l^2}\right] \quad (3.17)$$

onde D é o coeficiente de difusão, l é a comprimento do cilindro. A primeira equação é válida apenas para os primeiros 60% de fármaco libertado ao passo que a segunda é válida para os últimos 60% da libertação.

Para determinar o coeficiente de difusão utilizou-se a equação (3.16), obtendo-se a curva representativa da variação de M_t/M_∞ em função de $t^{1/2}$. A figura seguinte apresenta um exemplo dessa análise para o sistema 1.

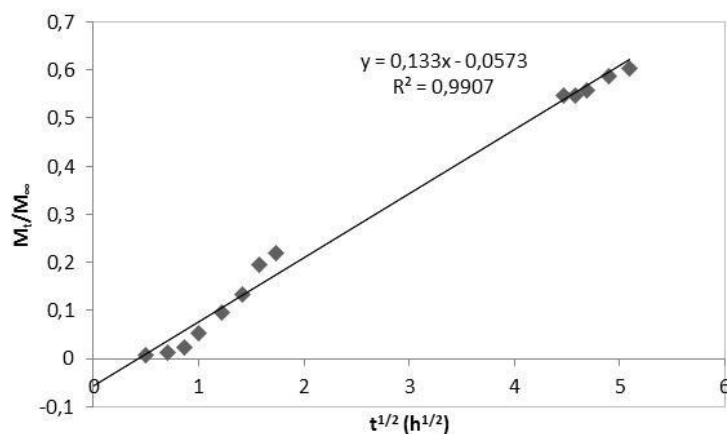


Figura 3.36 – Representação da variação de M_t/M_∞ em função de $t^{1/2}$ para o sistema de Dextrano com 1 hora de irradiação.

Através do declive da recta de regressão linear dos valores pode-se determinar o coeficiente de difusão de cada sistema recorrendo à expressão seguinte:

$$m = \frac{4.D^{\frac{1}{2}}}{l.\pi^{\frac{1}{2}}} \quad (3.18)$$

Ou rearranjando,

$$D = \frac{m^2.l^2.\pi}{16} \quad (3.19)$$

A tabela seguinte resume os resultados obtidos para os coeficientes de difusão para cada sistema a 25° e 37°C.

Tabela 3.XXI – Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas de Dextrano a 25°C e a 37°C.

Tempo de irradiação	T=25°C		T=37°C	
	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação
1	0,0825	0,991	0,0499	0,992
2	0,0658	0,992	0,0383	0,987
3	0,0589	0,989	0,0193	0,991
4	0,0429	0,995	0,00932	0,989
5	0,0370	0,996	0,00675	0,984

Da tabela anterior é possível observar uma diminuição gradual do coeficiente de difusão com o tempo de irradiação. Este facto era de prever uma vez que, com o aumento do tempo de irradiação observa-se um aumento da percentagem de copolímero e, conseqüentemente, das reticulações entre cadeias prolongando mais a saída do fármaco para o exterior e, conseqüentemente, diminuindo o coeficiente de

difusão do sistema. Com o aumento da temperatura, observa-se uma redução ainda maior deste valor, uma vez que, com a passagem a temperaturas superiores à Temperatura Crítica de Solução Inferior, as cadeias de NIPAAm introduzidas e polimerizadas vão agregar-se e contraírem-se levando a um maior controlo ainda sobre a libertação do fármaco. Deste modo, os valores para o coeficiente de difusão diminui quando comparado com o mesmo sistema a 25°C.

Finalmente foi ainda efectuado o estudo para a determinação do expoente cinético de difusão, de acordo com a expressão 3.3 apresentada na secção 3.3.5.1 . A figura seguinte apresenta, a título exemplificativo, a regressão efectuada para o sistema 1.

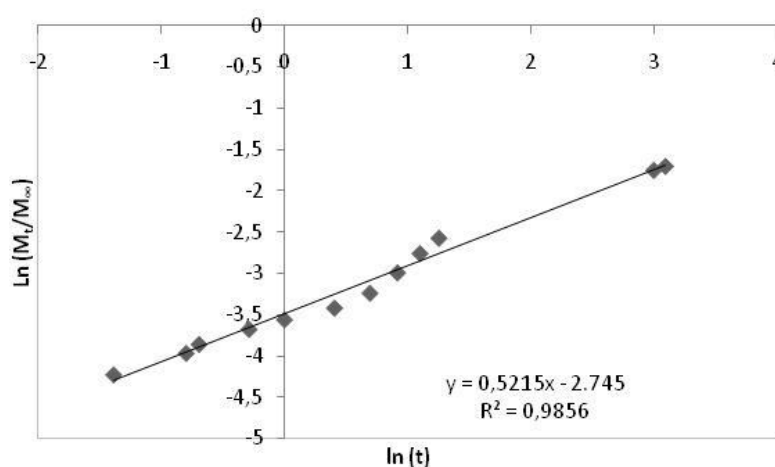


Figura 3.37 — Representação gráfica da regressão linear dos valores obtidos para a libertação do sistema 1, a 25°C

Como se pode observar, a representação gráfica assemelha-se a uma recta pelo que a regressão linear efectuada pode ser considerada como uma boa opção para a determinação do parâmetro característico da libertação. A tabela seguinte resume os valores determinados para todos os sistemas a ambas as temperaturas.

Tabela 3.XXII — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da libertação controlada de Ondansetron® para os sistemas de base Dextrano.

Sistema	T=25°C			T=37°C		
	n	k(h ⁿ)	R ²	n	k(h ⁿ)	R ²
1	0,521	0,0642	0,986	0,562	0,0575	0,978
2	0,539	0,0615	0,991	0,571	0,0541	0,956
3	0,542	0,0545	0,978	0,579	0,0484	0,987
4	0,563	0,0489	0,985	0,584	0,0421	0,971
5	0,571	0,0412	0,969	0,598	0,0358	0,969

Da tabela anterior podem ser retiradas diversas conclusões em relação ao tipo de difusão presente em cada situação. Globalmente, podemos afirmar que este tipo de aproximação utilizado para determinação dos parâmetros característicos da difusão foi bem escolhido uma vez que todos os sistemas apresentam valores para o coeficiente de correlação próximos da unidade.

Para os sistemas colocados a 25°C observa-se que todos, sem excepção, apresentam valores para o expoente característico da difusão próximos de 0,5, podendo todos ser considerados sistemas com difusão de fármaco do tipo Fickiana, ou seja, é a diferença de concentrações entre o exterior e o interior que vai levar à libertação do fármaco do interior do gel.

Verifica-se, para além disso, que os valores de n vão aumentando ligeiramente entre o primeiro e o último sistema. Tal aumento, e conseqüente afastamento aos valores Fickianos, pode ser explicada pelo aumento do grau de reticulação dos sistemas verificado pelo aumento da concentração de NIPAAm, levando a uma maior dependência da estrutura do gel na libertação. No entanto, globalmente todos os valores são muito próximos pelo que podemos dizer que a difusão é predominantemente do tipo Fickiano.

Relativamente a k , esta não é mais do que uma constante de proporcionalidade que está relacionada directamente com a estrutura e a geometria do hidrogel, podendo ainda variar de acordo com possíveis interacções de grupos

funcionais da molécula do hidrogel com grupos do fármaco. Observa-se que o valor de k vai diminuindo com o aumento do tempo de irradiação, o que traduz um aumento na reticulação do sistema e, conseqüentemente, uma diminuição da velocidade de libertação do fármaco.

Com o aumento da temperatura, observam-se alterações mais significativas nos valores obtidos, apesar de, mais uma vez, se encontrarem próximos de 0,5. Verifica-se que, para os géis com valores mais baixos de NIPAAm, o valor de n é próximo do valor para a difusão Fickiana, ou seja, controlada não pela estrutura polimérica mas pelo gradiente de concentrações. É, no entanto, de salientar que, apesar de o gel e a sua estrutura polimérica não controlarem directamente a libertação, este é indispensável para a libertação do mesmo, sendo o veículo utilizado para colocar o fármaco no local pretendido.

No entanto, com o aumento da concentração, e conseqüente termodependência do sistema, o valor de n aumenta para, tornando o processo difusional um misto entre a difusão do tipo Fickiana e do tipo não-Fickiana, controlada pela degradação e pela estrutura polimérica. Este resultado era em parte esperado dado que, para os casos com maior concentração em NIPAAm, o gel sofre uma alteração significativa ao nível da sua estrutura, sendo essa alteração responsável pelo controlo na libertação do fármaco. Também os valores de k sofreram alterações, apresentando reduções comparativamente aos valores obtidos para os mesmos sistemas mas a 25°C. Este facto revela uma modificação na estrutura e geometria do gel, relacionada com a agregação e contracção das cadeias de NIPAAm com a passagem a temperaturas acima da LCST. Deste modo, a libertação global do sistema acaba por ser mais lenta do que a observada para temperaturas abaixo da LCST. Estudos semelhantes têm mostrado comportamentos semelhantes, nomeadamente na redução da quantidade de fármaco libertada com o aumento da temperatura (Chuang *et al*, 2009). A termosensibilidade do gel revela, pois, a sua importância em todo o sistema de libertação, uma vez que esta permite, a altas temperaturas, nomeadamente a do corpo humano, um controlo mais rigoroso da libertação do Ondansetron® por parte de todo o sistema.

3.3.7.2. Sistemas de base Quitosano

Mais uma vez foi efectuado um estudo semelhante para os sistemas de base Quitosano. O primeiro passo foi, tal como nos sistemas de Dextrano, a introdução do fármaco no gel. Para tal utilizou-se o mesmo processo, no qual os géis foram colocados em soluções de fármaco e deixados absorver, sendo controlada a quantidade de fármaco introduzido pela diferença nas leituras efectuadas à solução. Os resultados encontram-se compilados na Tabela 3.XXIII.

Tabela 3.XXIII — Valores de fármaco absorvido por cada sistema de base Quitosano para as duas temperaturas testadas.

Sistema	$T = 25^{\circ}\text{C}$	$T = 37^{\circ}\text{C}$
	Fármaco Absorvido (mg/g polímero)	Fármaco Absorvido (mg/g polímero)
6	1.254	1.141
7	1.305	0.925
8	1.565	0.798
9	1.715	0.635
10	1.899	0.520

A tabela anterior mostra claramente, tal como se verificara para os sistemas de Dextrano na secção anterior, uma dependência da quantidade de fármaco absorvida com a capacidade de absorção de água encontrada para os mesmos. Desta forma, é o sistema 10, com maior quantidade de NIPAAm que, a 25°C , apresenta um maior valor para o total de fármaco absorvido. Comparativamente com os resultados

verificados na secção anterior, observa-se uma diminuição destes valores, em consonância com o observado anteriormente. Com o aumento da temperatura, observa-se uma diminuição significativa da quantidade absorvida de fármaco, resultado da presença de NIPAAm nos géis e da sua agregação, impedindo a absorção do fármaco. Mais uma vez, este resultado era esperado e encontra-se em consonância com o referido anteriormente, nomeadamente, com os valores de absorção de água previamente determinados. Deste modo, os géis com maior composição em NIPAAm, e com conseqüente maior termossensibilidade, são os que apresentam menores absorções de fármaco. Já comparando com os resultados obtidos para o Dextrano, verifica-se um ligeiro aumento no valor de fármaco absorvido, devido, principalmente, a uma menor introdução de NIPAAm nos sistemas de Quitosano pelas razões já anteriormente explicadas. Para além disso, e dada a estrutura do fármaco apresentada na secção 1.6 do Capítulo 1, observa-se a presença de um grupo C=O na estrutura química do Ondansetron®. Este grupo pode apresentar interacções com grupos amina do Quitosano, tal como se verifica para o caso das proteínas, permitindo assim uma maior absorção e retenção do Ondansetron® no gel de Quitosano.

Seguidamente, foram efectuados, de forma semelhante, os estudos de libertação de Ondansetron®. A figura seguinte apresenta o resultado obtido para todos os sistemas a 25°C.

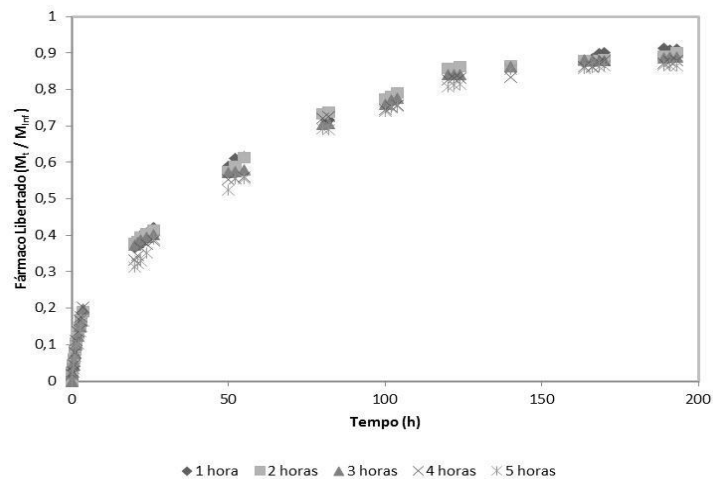


Figura 3.38 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Qitosano, a 25°C.

Na figura anterior observa-se que, tal como sucedera para os sistemas de base Dextrano, também os sistemas de base Qitosano, quando colocados a 25°C, apresentam uma libertação de Ondansetron® próxima da totalidade introduzida inicialmente. Observa-se também a libertação de forma mais acelerada na fase inicial do processo, presumivelmente, pelas mesmas razões apresentadas para os sistemas da secção anterior, ou seja, a diferença nas concentrações entre o interior e o exterior do gel.

De igual forma, verifica-se que, no final do ensaio, os valores totais libertados são próximos de 90% do total inicialmente introduzido, havendo ligeiras variações consoante a concentração final de NIPAAm no gel. No entanto, estas diferenças são mais ligeiras do que as observadas para o Dextrano. Esta redução pode levar a uma diminuição na variação observada entre sistemas, ao contrário do que sucedera para os sistemas de base Qitosano. Este facto pode ser justificado pela redução na quantidade de NIPAAm introduzida nos sistemas de base Qitosano e, conseqüente, redução no grau de reticulação do gel. Para além disso, e tal como sucedia para a libertação de água, o facto de ambos os compostos apresentarem pesos moleculares

tão distintos pode levar a que a estrutura do Dextrano permita uma maior libertação do fármaco na fase inicial. Também de salientar para o caso do Quitosano, a possível formação de uma interação extra quando comparado com o Dextrano entre o grupo C=O do fármaco e o grupo Amina do Polissacarídeo, permitindo um maior controlo na libertação do mesmo. No entanto, é de salientar que, quer para um ou outro polissacarídeo, as diferenças verificadas foram mínimas não se podendo afirmar que sejam significativas para os resultados finais, o que revela uma semelhança entre o comportamento dos dois polissacarídeos.

A figura seguinte apresenta o padrão de libertação para os sistemas colocados a 37°C.

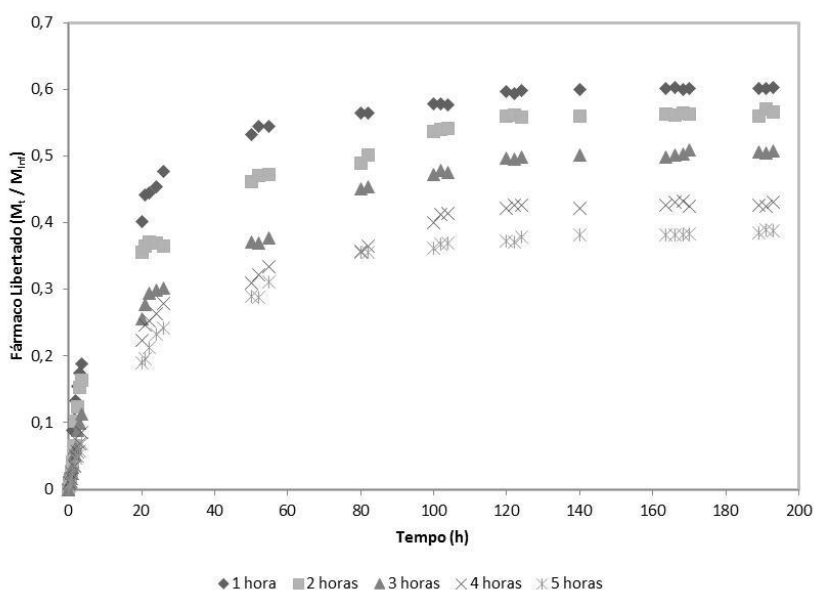


Figura 3.39 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Quitosano, a 37°C.

Tal como sucedido para os sistemas de base Dextrano, também os sistemas de Quitosano apresentam variações significativas no comportamento difusional do fármaco quando colocados a uma temperatura superior à LCST determinada.

Observa-se uma redução significativa para todos os sistemas da quantidade de fármaco libertada, sendo essa redução mais acentuada para os sistemas com maior tempo de irradiação, ou seja, com maior concentração final de NIPAAm. Este resultado encontra-se em consonância com o esperado e o observado para os sistemas de Dextrano, podendo aplicar-se a mesma justificação, ou seja, o colapso da estrutura polimérica devido ao aumento da temperatura. Este colapso faz com que parte do fármaco fique retida no interior do gel, não ocorrendo libertação deste. Para além disso, e devido a esse colapso ocorre uma libertação muito acentuada de parte do fármaco nos momentos iniciais do ensaio levando ao aumento rápido da concentração deste na fase inicial do ensaio.

De forma idêntica ao efectuado para os sistemas de Dextrano, efectuou-se a representação gráfica de M_t/M_∞ em função de $t^{1/2}$ para a determinação do coeficiente de regressão linear. A tabela seguinte resume os resultados obtidos para ambas as temperaturas estudadas.

Tabela 3.XXIV – Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas de Quitosano a 25°C e a 37°C.

Tempo de irradiação	T=25°C		T=37°C	
	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação
1	0,0725	0,998	0,0582	0,992
2	0,0642	0,996	0,0402	0,987
3	0,0574	0,993	0,0209	0,991
4	0,0411	0,985	0,0102	0,989
5	0,0359	0,993	0,00758	0,984

Da tabela anterior é possível observar, tal como acontecia para o Dextrano variações significativas do valor do coeficiente de Difusão com o aumento do tempo de irradiação e da quantidade de NIPAAm introduzida no sistema. Para além disso, e

comparativamente aos resultados obtidos para o Dextrano, observa-se uma diminuição do valor do coeficiente, denotando uma menor quantidade de fármaco libertada. Com o aumento da temperatura, observa-se uma redução drástica nos valores do coeficiente, denotando uma libertação globalmente mais lenta, onde parte do fármaco acaba por ficar retido no interior da estrutura devido à gelificação do sistema com a temperatura.

De seguida, foi efectuada o estudo matemático para a determinação dos parâmetros característicos da libertação tal como para os sistemas de Dextrano. A figura seguinte mostra a título exemplificativo os resultados da logaritmização dos valores obtidos e respectiva regressão linear para o sistema 6.

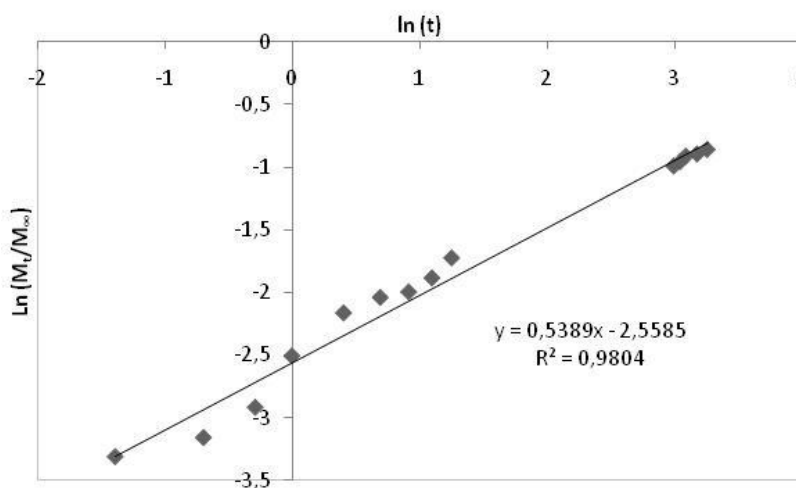


Figura 3.40 — Representação gráfica da regressão linear dos valores obtidos para a libertação do sistema 6, a 25°C.

Tal como sucedera para o sistema 1, também neste caso se observa que o método para a determinação da característica cinética dos sistemas se mostrou adequado, já que os valores obtidos para o coeficiente de regressão são próximos da

unidade. A tabela seguinte resume os resultados obtidos para ambas as temperaturas.

Tabela 3.XXV — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da libertação controlada de Ondansetron® para os sistemas de base Quitosano.

Sistema	T=25°C			T=37°C		
	n	k (h ⁿ)	R ²	n	k(h ⁿ)	R ²
6	0,539	0,0774	0,980	0,574	0,0632	0,987
7	0,541	0,0721	0,989	0,581	0,0512	0,988
8	0,553	0,0614	0,988	0,582	0,0492	0,975
9	0,569	0,0474	0,989	0,595	0,0452	0,990
10	0,571	0,0420	0,984	0,605	0,0325	0,988

Da tabela anterior é possível verificar que, tal como referido anteriormente, o método escolhido para a determinação dos parâmetros cinéticos foi o ideal, dado que para todos os sistemas se obtiveram valores elevados para o coeficiente de correlação. Para os sistemas a 25°C observa-se que os valores do expoente característico se encontram próximos de 0,5, ou seja, todas as libertações são do tipo Fickiana, controlada pelos gradientes de concentrações que existem entre o interior e o exterior do gel. Estes resultados são semelhantes aos determinados na secção anterior para os sistemas de base Dextrano, e também observados graficamente pelo padrão de libertação do Ondansetron®.

Relativamente aos valores obtidos para k observa-se, tal como para os sistemas de Dextrano, uma diminuição deste com o aumento do tempo de radiação, denotando uma mudança na estrutura e geometria do sistema e, no caso do Quitosano, as possíveis interações com os grupos C=O do fármaco e amina do Quitosano.

No entanto, quando ocorre o aumento da temperatura para 37°C, verifica-se, tal como para o Dextrano, um aumento do valor de n , sendo que, no entanto, para o caso do Quitosano, este aumento é inferior e, conseqüentemente, a difusão do fármaco não se encontra tão dependente da estrutura polimérica como no caso do

Dextrano. Este facto pode ser explicado pela circunstância de a quantidade de NIPAAm introduzida para o caso do Quitosano, nas mesmas condições, ser inferior à quantidade total introduzida para o Dextrano. Deste modo, o efeito barreira que se verifica no caso do Dextrano é menor para esta situação, permitindo uma libertação um pouco maior em quantidade do fármaco.

3.4. Conclusões

Dos resultados apresentados em todo o capítulo podem ser retiradas diversas conclusões. A primeira é a de que o método utilizado para esta polimerização, ou seja, o uso da radiação γ é eficaz na síntese de um sistema de libertação controlada com propriedades termossensíveis. Através dele, foi possível obter diversos géis, com características distintas umas das outras, mas todos com termossensibilidade.

Para além disso, verificou-se que a variação do tempo de irradiação da amostra faz variar a composição final de todo o sistema, denotando-se uma relação directa desta com a concentração de NIPAAm no gel. Deste modo, concluiu-se que o aumento do tempo de irradiação produzia géis com maiores concentrações em NIPAAm e, conseqüentemente, maiores variações nas propriedades apresentadas por este com a temperatura. A variação da composição foi comprovada por diversas técnicas, nomeadamente pelo FTIR-ATR, tendo este, no entanto, não comprovado a existência de um copolímero de enxerto e não de uma mistura física de dois homopolímeros.

Uma outra conclusão retirada foi a de que é possível alterar a temperatura de solução crítica inferior da PNIPAAm com a introdução de diferentes materiais, podendo adaptá-la a diferentes circunstâncias. Neste caso, observou-se uma variação nesta temperatura para valores mais próximos da temperatura corporal humana.

A capacidade de absorção de água mostrou uma clara dependência da temperatura à qual eram realizados os ensaios, verificando-se que, para temperaturas inferiores, os sistemas se comportavam como superabsorventes, com valores de absorção de água superiores a 100%, enquanto para os sistemas a temperaturas superiores a LCST não tínhamos esse comportamento — apenas hidrogéis com absorções inferiores às registadas para os sistemas anteriores. Para além disso, verificou-se uma variação nesta propriedade de acordo com o material-base utilizado para cada sistema, com os sistemas de base Quitosano a apresentarem, na globalidade, valores inferiores dada a maior hidrofobicidade deste material. Também a diferença de peso molecular entre os dois polissacarídeos poderá ter levado a essa diferença de hidrofílicidades.

Os ângulos de contacto permitiram, em primeiro lugar, confirmar os resultados obtidos para a absorção de água e, em segundo lugar, determinar os valores para as tensões superficiais dos géis e compará-las com os valores conhecidos para a pele. Concluiu-se que todos os sistemas, independentemente da temperatura a que forem colocados, apresentaram um comportamento adesivo à pele. Observaram-se as variações expectáveis nas componentes polar e dispersiva de cada gel com a temperatura, mas, na globalidade, a principal conclusão manteve-se independente da temperatura.

Finalmente, os ensaios de libertação de Ondansetron® revelaram uma libertação do tipo Fickiano para os géis colocados a temperaturas inferiores a LCST, independente do tipo de polissacarídeo-base do sistema. No entanto, com o aumento da temperatura, observou-se uma diminuição na quantidade de fármaco libertado, com redução do coeficiente de difusão e no tipo de libertação, verificando-se que alguns sistemas já apresentavam libertações do tipo não-Fickiano, ou seja, dependente não só do gradiente de concentrações do meio mas também da estrutura polimérica do mesmo.

Globalmente, é de salientar, todavia, que os resultados destes sistemas se mostraram promissores e de grande utilidade numa possível aplicação deste sistema a doentes. Os resultados obtidos anteriormente demonstram um caso específico de

utilização dos sistemas preparados. No entanto, é de referir que a utilização dos mesmos não se encontra restringida ao fármaco utilizado e ao local de aplicação. Dada a diferente termosensibilidade demonstrada por cada sistema, quer por alteração do polissacarídeo de base quer pelo tempo de reacção, pode-se sugerir a aplicação dos mesmos em situações bastante variadas, como, por exemplo, em oftalmologia, no olho e nas doenças do foro ocular. Para estes casos, dada a temperatura dessa zona, ligeiramente inferior à do corpo humano, é possível utilizar sistemas com LCST mais baixa para um melhor controlo de libertação de fármaco. Os ângulos de contacto são favoráveis à utilização destes sistemas como sistemas de libertação tópica. Outra possível aplicação pode ser para um controlo maior para pacientes com estados febris distintos, podendo, nestes casos, ser aplicado um sistema diferente a cada um deles, onde a LCST seja modificada permitindo controlos de libertação consoante a temperatura corporal de cada doente.

Bibliografía

Biswal *et al.*, "Radiation-induced grafting of acrylamide onto guar gum in aqueous medium: Synthesis and characterization of grafted polymer guar-g-acrylamide", *Radiation Physics and Chemistry*, 2007, 76, 1624-1630.

Cai, Hong, *et al.*, "Synthesis and characterization of thermo- and pH- sensitive hydrogels based on Chitosan-grafted N-Isopropylacrylamide via γ -radiation", *Radiation Physics and Chemistry*, 2005, 74, 26-30.

Casimiro, M. H., *et al.*, "Characterisation of gamma irradiated chitosan/pHEMA membranes for biomedical purposes", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2005, 236, 482-487.

Casimiro, M. H., *et al.*, " Study on chemical, UV and Gamma Radiation-induced grafting of 2-hydroxyethyl methacrylate onto chitosan", *Radiation Physics and Chemistry*, 2005, 72, 731-735.

Chen, Jie, *et al.*, "Preparation and characterization of a novel IPN hydrogel membrane of poly(N-Isopropylacrylamide) / carboxymethylchitosan (PNIPAAm/CMCS)", *Radiation Physics and Chemistry*, 2007, 76, 1425-1429.

Chuang, Chung-Yang, *et al.*, "Synthesis of Chitosan-Based Thermo- and pH-Responsive Porous Nanoparticles by Temperature-Dependent Self-Assembly Method and Their Application in Drug Release", *Journal of Polymer Scienc: Part A: Polymer Chemistry*, 2009, 47, 5126-5136.

Ciardelli, Gianluca, *et al.*, "Blends of Poly-(ϵ -caprolactone) and Polysaccharides in Tissue Engineering Applications", *Biomacromolecules*, 2005, 6, 1961-1976.

Croonenborghs, B., *et al.*, "X-Ray versus gamma irradiation effects on polymers", *Radiation Physics and Chemistry*, 2007, 76, 1676-1678.

Gil, Victor, "Química", *Plátano Editora*, 1996, Lisboa.

Gil, Victor M. S., Geraldês, Carlos, F. G. C., "Ressonância Magnética Nuclear — Fundamentos, métodos e aplicações", *Fundação Calouste Gulbenkian*, Lisboa, 2ª Edição, 2002.

Garnett, J. L., "Grafting", *Radiation Physics and Chemistry*, 1979, 14, 79-99.

Joeng, B., *et al*, "Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, 54, 37-51.

Katsumoto, Yukiteru, *et al*, "Conformational Change of Poly(N-Isopropylacrylamide during the Coil-Globule Transition Investigated by Attenuated Total Reflection/Infrared Spectroscopy and Density Functional Theory Calculation", *Journal of Physical Chemistry A*, 2002, 106, 3429-3435.

Kumashiro, Y, *et al*, "Dextran Hydrogels Containing Poly(Nisopropylacrylamide) as Grafts and Cross-Linkers Exhibiting Enzymatic Regulation in a Specific Temperature Range", *Macromolecule Rapid Communications*, 2004, 25, 867/872.

Kumashiro, Y., *et al*, "Modulatory factorsTemperature-Synchronized Degradation of Dextran Grafted with Thermoresponsive Polymers and Their Hydrogels", *Biomacromolecules*, 2001, 2(3), 874-879.

Kurika, K., "Polymeric materials Encyclopedia", *CRC Press*, New York, 1996, Vol 2, 1205.

Kwot, S. C. H. *et al*, "Surface Energy, wettability, and blood compatibility phosphorus doped diamond-like carbon films", *Diamond & Related Materials*, 2005, 14(1), 78-85.

Lu Diannan, *et al*, "Dextran-grafted-PNIPAAm as an artificial chaperone for protein refolding", *Biochemical Engineering Journal*, 2006, 27, 336-343.

Lugscheider, E., Bobzin, K., "The influence on Surface free energy of PVD-coatings", *Surface Coating Technology*, 2001, 142-144, 755-760.

L'Annunziata, M. F., "Radioactivity: introduction and history", *Elsevier*, Amsterdam, 2007, 55-58.

Morrison, R., Boyd, R. "Química Orgânica", *Fundação Calouste Gulbenkian*, 15ª Edição, Lisboa, 2009.

Owens, D. K., Wendt, R. C., "Estimation of the Surface free energy of polymers", *Journal of Applied Polymer Science*, 1969, 13(8), 1741-1747.

Packam, D. E., "Surface energy, surface topography and adhesion", *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 2003, 23(6), 437-448.

Peppas, N.A., "Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers", *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 1985, 60, 110-111.

Rosiak, J.M., *et al*, "Radiation formation of hydrogels for biomedical purposes, some remarks and comments", *Radiation Physics and Chemistry*, 1995, 46, 161-168.

Rosiak, J.M., Yoshii, F., "Hydrogels and their medical applications", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 1999, 151, 56-64.

Shaw, R. W., *et al*, "Spontaneous Ultraviolet Emission from ²³³Uranium/ ²²⁹Thorium Samples", *Physical Review Letters*, 1999, 82(6), 1109-1111.

Shi, Huan-Ying, Zhang, Li-Ming, "Phase-Transition and aggregation characteristics of a thermoresponsive dextran derivative in aqueous solutions", *Carbohydrate Research*, 2006, 341, 2414-2419.

Van de Velde, Kathleen, Kiekens, Paul, "Structure analysis and degree of substitution of chitin, chitosan and dibutylchitin by FT-IR spectroscopy and solid state ^{13}C NMR", *Carbohydrate Polymers*, 2004, 58, 409-416.

Van Tomme, S.R., Hennink, W.E., "Biodegradable dextran hydrogels for protein delivery applications", *Expert Review of Medical Devices*, 2007, 4, 147-164.

Venkatraman, S., Gale, r., "Skin adhesives and skin adhesion", *Biomaterials*, 1998, 19(13), 1119-1136.

Wang, Li-Qun, *et al*, "Synthesis and characterization of temperature responsive graft copolymers of dextran with poly(*N*-isopropylacrylamide)", *Reactive & functional Polymers*, 2002, 53, 19-27.

Hidrogéis Preparados por Iniciação Química

4. Hidrogéis Preparados por Iniciação Química	151
4.1. INTRODUÇÃO	151
4.2. PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS	153
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	155
4.3.1. Análise Elementar	157
4.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	161
4.3.3. Ressonância Magnética Nuclear do Protão (¹ H-RMN)	166
4.3.4. Determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)	171
4.3.4.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	172
4.3.4.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	174
4.3.5. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água	176
4.3.5.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	176
4.3.5.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	185

4.3.6. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície	193
4.3.6.1. <i>Sistemas de Base Dextrano</i>	194
4.3.6.2. <i>Sistemas de Base Quitosano</i>	198
4.3.7. Avaliação do padrão de libertação do fármaco	202
4.3.7.1. <i>Sistemas de base Dextrano</i>	203
4.3.7.2. <i>Sistemas de base Quitosano</i>	210
4.4. CONCLUSÕES	216
BIBLIOGRAFIA	219

4. Hidrogéis preparados por iniciação química

Neste capítulo serão apresentados toda a teoria, experimentação, resultados, conclusões e bibliografia referentes às reacções cuja iniciação foi efectuada recorrendo a iniciadores químicos, nomeadamente o Nitrato de Cério-Amónio (IV) (NCA).

4.1. Introdução

A introdução de centros activos em moléculas de polissacarídeos, como Dextrano ou Quitosano, tem sido alcançada de diferentes modos químicos, sendo normalmente utilizadas com maior frequência a iniciação radicalar ou iónica, com maior incidência na primeira. Os trabalhos mais recentes neste campo mostram uma fase inicial onde ocorre a oxidação do polissacarídeo, seguindo-se uma polimerização radicalar. A formação destes centros activos pode, pois, ser alcançada recorrendo a diversos materiais tais como BF_3 , ocorrendo uma iniciação catiónica, ou através da presença de diversas bases, levando a uma iniciação aniónica.

A introdução de radicais livres capazes de permitir a polimerização radicalar pode ser alcançada nas moléculas de polissacarídeos por diversos métodos químicos, recorrendo para tal a iniciadores como peróxidos ou persulfatos. No entanto, para além destes, os sais de Cérium IV recentemente têm sido alvo de uma especial atenção, uma vez que permitem a introdução de radicais livres sem que para tal seja necessário efectuar qualquer modificação inicial da molécula de polissacarídeo (Pourjavadi & Zohuriaan-Mehr, 2002; Zhang & Chen, 2002). Para além disso, a sua facilidade de aplicação e a sua eficiência na introdução de copolímeros no sistema final fazem dos sais de Ce^{IV} um material a ser cada vez mais utilizado neste processo.

Os iões de Ce^{4+} constituem um forte agente oxidante ($E^{\circ} \sim 1,7$ V). Em reacções redox, $Ce(IV)$ é convertido em $Ce(III)$ através da transferência de electrões, sendo por isso utilizado para reacções com grupos álcool, fenol ou éter.

NCA foi criado pela primeira vez em por Smith *et al* (Smith *et al*, 1936) em 1936. A sua preparação foi alcançada recorrendo à dissolução de óxido de cério ou hidrato de cério em ácido nítrico concentrado e de elevadas quantidades de sais de amónio. Após a reacção, é efectuada uma evaporação do solvente, a baixas temperaturas obtendo-se um pó de cor laranja como é apresentado na figura seguinte:



Figura 4.1 — NCA em pó tal como obtido pela técnica descrita anteriormente.

O NCA apresenta diversas vantagens no seu uso a nível laboratorial, tais como uma elevada solubilidade em água, cerca de 1,41g/mL a 25°C, solubilidade em ácidos orgânicos polares, tais como ácido acético, baixo custo de aquisição ou características que o tornam de certa forma ecológico, permitindo trabalhar com uma química mais agradável ao ambiente, a chamada química verde (Mellor *et al*, 2000).

Neste capítulo, descreve-se a utilização do NCA para a iniciação da polimerização radicalar. Esta técnica baseia-se no facto de qualquer polissacarídeo, na

presença de sais de Ce^{IV} , como o Nitrato de Cérium-Amónio (NCA), permitir a formação de radicais livres capazes de iniciar uma polimerização radicalar através de uma simples transferência de electrões (Pourjavadi *et al*, 2003; Joshi & Sinha, 2007). Esta técnica apresenta uma vantagem comparativamente a outras que permitem a formação de radicais também, uma vez que a formação destes ocorre de forma quase exclusiva no polissacarídeo, levando a não existência de homopolímero no composto final (Jana *et al*, 2000; Lee *et al*, 2004). A reacção é facilmente observável pela mudança de coloração na solução, de laranja para um amarelo pálido, ou mesmo incolor, dependendo da coloração inicial do polissacarídeo.

Para além de iniciador químico, NCA tem sido utilizado com frequência na indústria química, através de soluções de NCA em ácido perclórico diluído, na preparação de circuitos, ou mesmo na limpeza de superfícies antes da sua utilização em diversas indústrias (Hwu & King, 2001).

4.2. Preparação dos hidrogéis

Na preparação dos géis recorreu-se à utilização de outros reagentes para além dos apresentados no capítulo 2. Deste modo, e como iniciador químico, foi utilizado o Nitrato de Cério-Amónio (IV) (NCA), adquirido à Sigma. Para a preparação dos polímeros foram feitas inicialmente as soluções de Dextrano e de Quitosano, previamente descritas no capítulo 2. Após a sua preparação, foi introduzido 1g de N-Isopropilacrilamida na solução, procedendo-se à homogeneização da solução com recurso à agitação magnética. Posteriormente, cada solução foi adicionada à mistura 100 mg de NCA deixando-se em agitação magnética por 10 minutos antes da colocação das misturas na estufa a 50°C.

Tal como indicado no capítulo 3, também, neste caso, foram efectuadas vários testes para diferentes tempos de reacção de cada amostra, por forma a

identificar a influência deste nos géis finais obtidos. A tabela seguinte revela todos os ensaios efectuados.

Tabela 4.1 — Tempos de reacção utilizados para os diferentes sistemas.

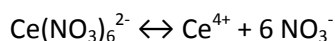
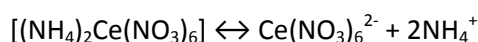
Sistema	Dextrano (g)	Quitosano (g)	Tempo de reacção (h)
1	1		1
2	1		2
3	1		3
4	1		4
5	1		5
6		1	1
7		1	2
8		1	3
9		1	4
10		1	5

Após a reacção, cada amostra foi colocada numa membrana de diálise e, posteriormente, em Erlenmeyers com água destilada e agitação mecânica, procedendo-se à diálise dos géis por forma a eliminar restos de monómeros por reagir e de iniciador.

4.3. Resultados e Discussão

Tal como para os géis produzidos por radiação γ e apresentados no capítulo 3, também estes apresentaram um aumento significativo na sua viscosidade, variando este com o tempo de reacção. Deste modo, géis com menos tempo de reacção apresentavam menor viscosidade. De igual modo, foi efectuada a mesma reacção com os polissacarídeos, verificando-se uma manutenção das características observadas no início, independentemente do tempo de reacção a que cada amostra fora sujeita.

Estudos mostram que NCA existe como um sal complexo $[(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6]$, que posteriormente é ionizado em solução, segundo a seguinte reacção (Dimitriu, 2005):



De seguida, o ião Ce^{4+} , em pH ácido forma quelatos com a molécula de polissacarídeo, através de uma reacção com os carbonos C_2 e C_3 da molécula, ocorrendo a transferência de um electrão e também a redução de Ce(IV) para Ce(III), seguindo-se a libertação deste e a quebra da ligação C2-C3, formando-se um radical livre num dos dois carbonos, C_2 ou C_3 .

Estudos efectuados (Arthur *et al*, 1996) mostram, no entanto, que a quebra da ligação ocorre apenas para concentrações elevadas de Ce(IV) e para situações onde ocorre um contacto mais alargado entre o agente oxidante e o composto. Uma vez que tal não acontece neste caso, é de prever que não ocorra a quebra na ligação $\text{C}_2\text{-C}_3$ durante a formação do radical.

O esquema da reacção é apresentado na figura seguinte:

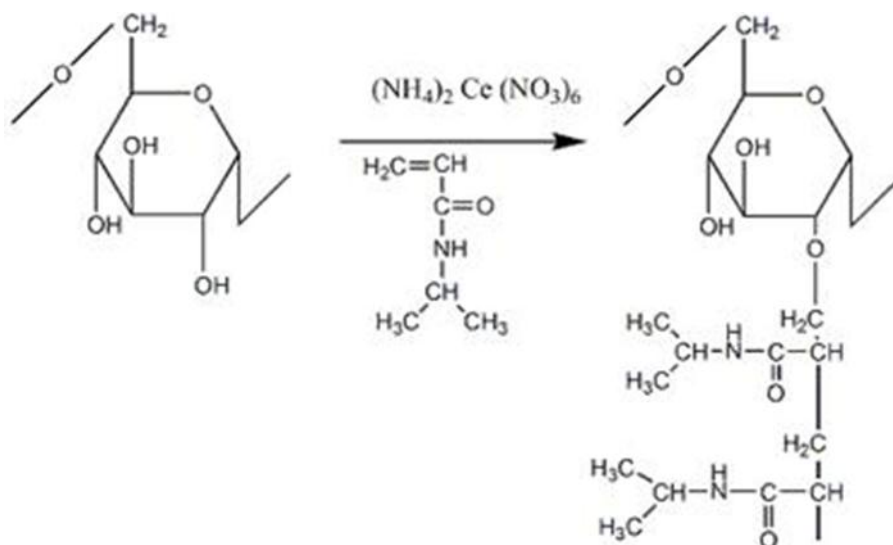


Figura 4.2 — Reacção provável entre Dextrano e N-Isopropilacrilamida com recurso a NCA como iniciador.

A imagem anterior mostra genericamente a reacção entre NIPAAm e Dextrano, sendo possível observar a introdução de NIPAAm no sistema e a consequente polimerização desta a partir da formação de radicais nos grupos hidroxilo do Dextrano. Este esquema apresenta a reacção ocorrida para um grupo hidroxilo tendo, no entanto, presente que a mesma pode acontecer em qualquer um dos três grupos hidroxilo do Dextrano. Uma reacção semelhante ocorre para o Quitosano, notando-se apenas uma maior dificuldade na dissolução do NCA na solução, uma vez que o solvente, para este último caso, é o ácido acético e para este o NCA apresenta uma menor dissolução face ao que acontece quando o solvente é água, como no caso do Dextrano. No entanto, em ambos os casos é possível a introdução de PNIPAAm no gel, tal como se pretendia. Em alguns estudos semelhantes, verificou-se que a reacção para o caso do Quitosano acontecia,

predominantemente, nos grupos Hidroxilo em vez dos grupos Amina do polissacarídeo (Lee *et al*, 2004).

4.3.1. Análise elementar

Tal como nos ensaios anteriores, os ensaios de análise elementar foram efectuados com o objectivo de observar a variação da percentagem dos diferentes elementos constituintes dos géis e a possível correlação desta com o total de NIPAAm introduzido com sucesso em cada gel.

A figura seguinte apresenta a variação da percentagem de azoto para todos os géis obtidos.

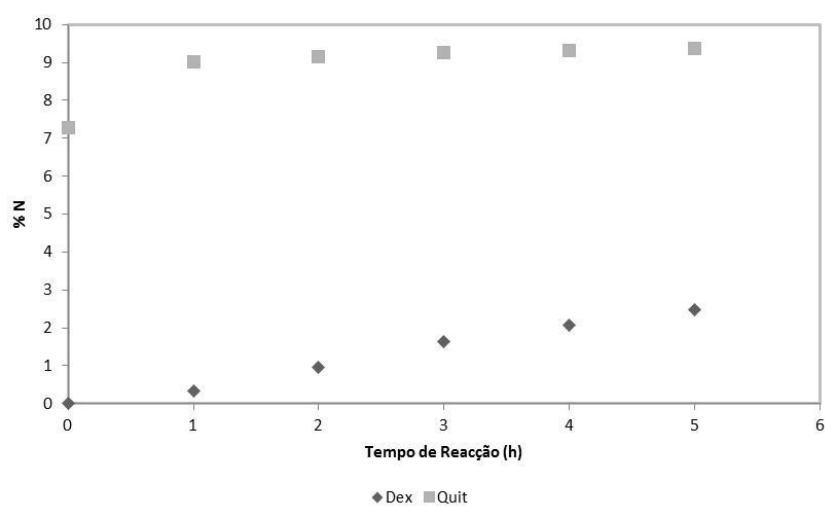


Figura 4.3 — Variação da percentagem de azoto presente nas amostras ao longo dos diferentes tempos de reacção.

Tal como sucedia no capítulo anterior, a amostra original de Dextrano não apresentava nenhuma percentagem de azoto, dado que, como já foi referido, não possui qualquer quantidade deste elemento na sua constituição. No entanto, observa-se um aumento da percentagem de azoto com o tempo de radiação, sendo que, para o tempo máximo de 5 horas, se verifica um valor máximo da quantidade detectada de azoto. Mais uma vez, é possível afirmar que existe uma relação directa entre a quantidade de azoto introduzida na amostra e o tempo de reacção. É, no entanto, de salientar que, para tempos de reacção inferiores, se observa uma menor variação na quantidade de azoto introduzida com o tempo de reacção quando comparada depois com os maiores tempos de reacção. Tal facto pode indicar que a reacção necessita de algum tempo no início para ocorrer, possivelmente devido à necessidade de existência de temperaturas mais elevadas na amostra, explicando-se assim os valores mais baixos obtidos para estes primeiros tempos. Todavia, verifica-se um aumento geral de 2% no total de azoto introduzido na amostra.

Para o caso do Quitosano, verificou-se que, de forma semelhante ao sucedido no capítulo 3, a amostra inicial de polissacarídeo apresentava já uma percentagem de azoto, servindo este ensaio como um padrão para posteriores comparações. Com o início da reacção, observou-se que, para o sistema 6, o aumento na percentagem de azoto no gel é superior ao valor obtido para o caso do sistema 1, de base Dextrano. Esta variação pode ficar a dever-se ao facto de o pH das duas soluções ser diferente, sendo mais ácido no caso do sistema 6, factor que ajuda a acelerar a reacção. Deste modo, inicialmente, observa-se um aumento superior na percentagem de azoto para o Quitosano. No entanto, após este aumento, verifica-se que a quantidade de azoto introduzida parece estabilizar, indicando uma possível diminuição na quantidade de PNIPAAm introduzida no sistema.

Comparativamente a estudos já efectuados com ambos os materiais, observam-se resultados semelhantes, com estudos a salientarem também eles a variação do total de copolímero introduzido com o aumento da concentração dos reagentes (Alves & Mano, 2008)

Globalmente, e comparando com os resultados obtidos no capítulo 3, verifica-se que, para mesmos tempos de reacção no Dextrano, ocorre uma variação menos significativa no aumento da percentagem de azoto. A redução é maior quando os tempos de reacção são inferiores, sendo a diminuição desta na ordem dos 80% comparativamente aos resultados obtidos por radiação γ . À medida que o tempo de reacção aumenta, esta diferença vai diminuindo para cerca de 70%. Estes valores podem ser justificados pelo início lento da reacção com NCA, por um lado, e com a estabilização da reacção e aproximação ao estado de equilíbrio para o caso dos géis obtidos com radiação γ . Nos géis de base Qitosano, as conclusões são semelhantes, verificando-se também uma redução na quantidade de azoto introduzida pelo método de iniciação química, quando comparado com as mesmas condições, para o método de radiação γ . Para este caso, as reduções observadas são também semelhantes, sendo, no entanto, para a fase inicial, ligeiramente inferiores, denotando uma cinética inicial da reacção mais elevada, como já foi referido anteriormente.

De forma idêntica também foi analisada uma amostra de ambos os polissacarídeos com NIPAAm com um tempo de reacção de 24 horas para verificar se ocorria variação significativa comparativamente às 5 horas de reacção. Os resultados, tal como já sucedera para o capítulo 3, mostraram que o aumento da percentagem de azoto para ambos os polissacarídeos não era significativo pelo que se optou por não efectuar reacções com tempos superiores a 5 horas.

Tal como para os géis obtidos por radiação γ , também nestes foi efectuado um estudo recorrendo à fórmula 3.1, apresentada na secção 3.3.1 Para determinar a percentagem de copolímero introduzida.

Os valores obtidos para cada um dos géis encontram-se na Tabela 4.II.

Tabela 4.II — Variação da percentagem de copolímero com o tempo de reacção.

Sistema	Percentagem de copolímero (%)
1	3
2	8
3	13
4	17
5	20
6	14
7	15
8	16
9	16
10	17

Como se pode verificar na tabela anterior, e tal como seria esperado, observa-se um aumento da percentagem total de copolímero final nos géis com o aumento do tempo de reacção de cada gel. Também se pode observar que, através deste método, é possível introduzir nos hidrogéis percentagens elevadas de NIPAAm. No entanto, e tal como foi referenciado anteriormente, observa-se que, para tempos de reacção inferiores, os sistemas de base Quitosano apresentam valores superiores no total de PNIPAAm introduzido quando comparado com os sistemas de Dextrano nas mesmas condições reaccionais. Tal facto, como foi referido anteriormente, pode ficar a dever-se ao pH da mistura reaccional, que para o Quitosano é inferior, acelerando a reacção de copolimerização. Comparativamente a resultados obtidos para sistemas semelhantes na literatura, é possível observar que os resultados são inferiores aos determinados (Lee *et al*, 2004), possivelmente devido às concentrações utilizadas na síntese destes sistemas.

Comparativamente com os resultados obtidos no capítulo 3, e tal como seria de esperar, após os resultados obtidos para a percentagem de azoto, os valores de copolímero introduzido em cada sistema são inferiores aos encontrados no caso da polimerização com radiação γ . Este facto pode estar relacionado com as diferentes

cinéticas de reacção verificadas para os dois sistemas distintos, podendo afirmar-se que, para o caso da radiação γ , a cinética é mais rápida do que no caso dos géis iniciados por NCA.

Finalmente, foi determinado, como referido, um parâmetro cinético que dá de alguma forma, uma indicação da afinidade da NIPAA para com ambos os polissacarídeos. Os resultados foram determinados de forma idêntica à apresentada no capítulo 3. Verificou-se que, para os sistemas de base Dextrano, o parâmetro encontrado foi de $0,30 \text{ h}^{-1}$ para os sistemas de Dextrano e $0,045 \text{ h}^{-1}$ para os sistemas de Quitosano. Tal como esperado, este parâmetro para o Dextrano é superior ao obtido para o Quitosano, podendo sugerir uma maior afinidade, tal como sucedia no capítulo 3, do NIPAAm para com o Dextrano do que para com o Quitosano. De igual forma se observa que os resultados obtidos, quando comparados com os apresentados para o capítulo 3, são inferiores, ou seja, a afinidade da NIPAAm para este tipo de reacção é inferior.

4.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)

Tal como referido no capítulo 3, a técnica da espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR) foi utilizada como método para verificar a variação dos grupos constituintes de cada gel e, conseqüentemente, a introdução de PNIPAAm nos polissacarídeos, e sua variação com o tempo de reacção.

A figura 4.4 apresenta o espectro obtido para o sistema 1.

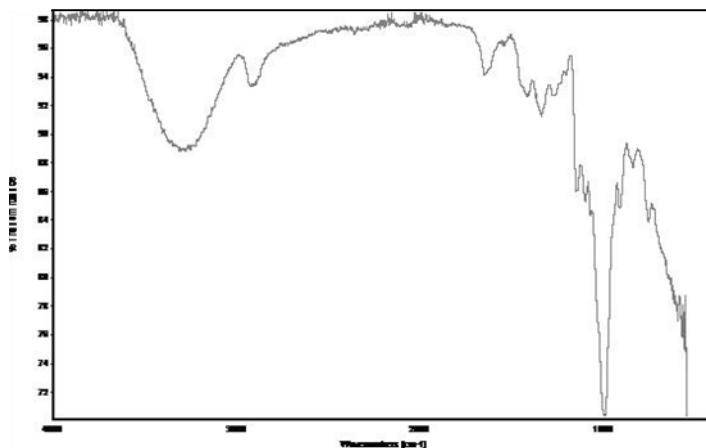


Figura 4.4 — Espectro de FTIR do sistema 1.

Mais uma vez, e comparando o espectro obtido para o Dextrano e apresentado no capítulo 3, observam-se diversas modificações, nomeadamente, o aparecimento de um pico, novamente a $\sim 1550 \text{ cm}^{-1}$, previamente descrito como referente a deformações na ligação do grupo amina existente na NIPAAm. É também possível verificar um aumento ligeiro na intensidade do pico a $\sim 1640 \text{ cm}^{-1}$, possivelmente relacionado com as vibrações do grupo C=O da NIPAAm (Ciardelli *et al*, 2006; Katsumoto *et al*, 2002). Para o caso do Quitosano, também com 1 hora de reacção, os resultados obtidos foram os seguintes:

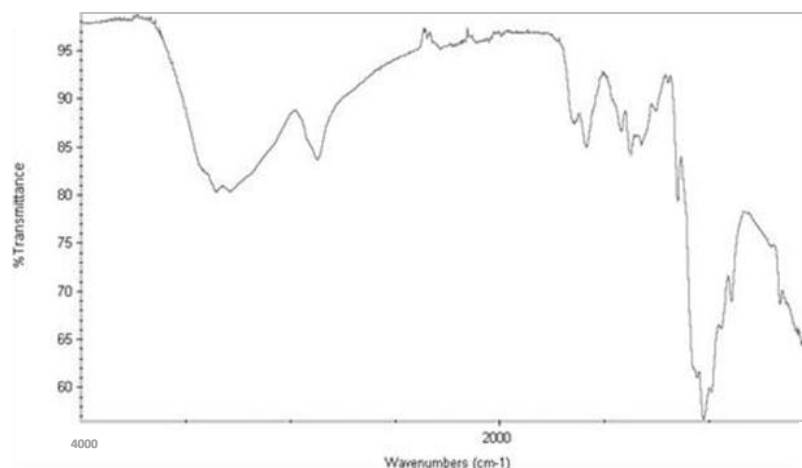


Figura 4.5 — Espectro de FTIR do sistema 6.

Tal foi referido anteriormente, após uma hora de reacção, verificam-se picos a 1640 e 1550 cm^{-1} com intensidades superiores às observadas no Dextrano. Tal facto fica a dever-se a dois factores distintos. Em primeiro lugar, esses picos já existem no espectro de Quitosano, como se verificou no capítulo 3, uma vez que este polissacarídeo também possui na sua estrutura um grupo amina (Van de Velde & Kiekens, 2004). Para além disso, e como foi dito na secção anterior, a reacção, para tempos baixos, ocorre de forma mais acelerada para o Quitosano do que para o Dextrano, justificando também um aumento mais acentuado na intensidade dos picos correspondentes à PNIPAAm.

Comparativamente com os resultados obtidos para os mesmos sistemas no capítulo 3, observa-se que, tal como esperado, a intensidade dos picos, quer para o Dextrano quer para o Quitosano, é inferior à intensidade observada para os géis obtidos com irradiação γ . Tal facto foi anteriormente justificado, pelo que não será referido novamente.

A figura seguinte apresenta o resultado obtido para o sistema 5.

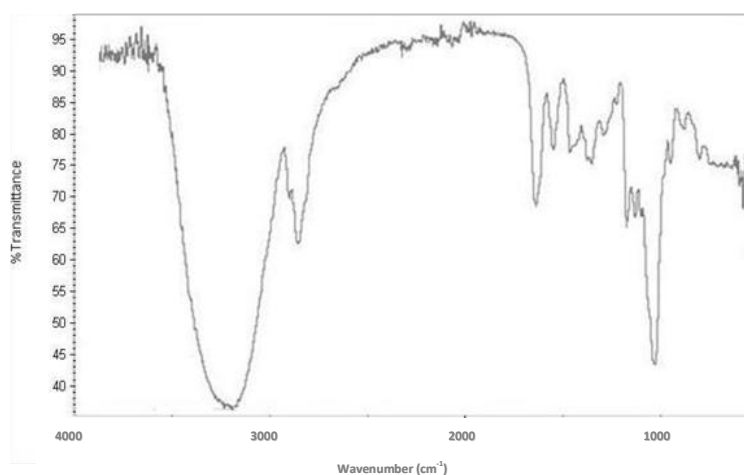


Figura 4.6 — Espectro de FTIR do sistema 5.

Mais uma vez, quando ocorre um aumento do tempo de irradiação de 1 para 5 horas, observa-se um aumento na intensidade dos picos característicos da PNIPAAm, nomeadamente a 1640 cm^{-1} e 1550 cm^{-1} , indicando um aumento da concentração deste composto no sistema final. Tal como sucedia para os géis produzidos através da radiação γ , também se observa um incremento da reacção obtida verificada pela intensidade do pico a 1400 cm^{-1} , referente à deformação das ligações dos grupos $-\text{CH}_3$ existentes na NIPAAm. Para o caso do Quitosano, a figura 4.7 apresenta o FTIR obtido para o sistema 10.

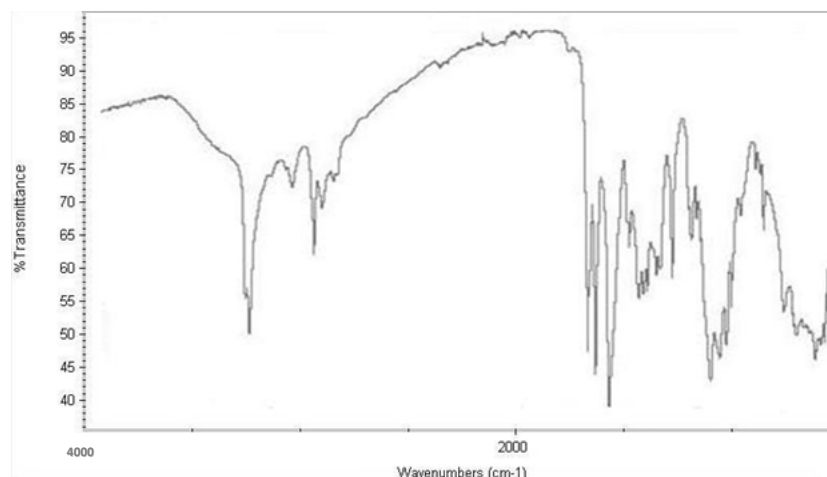


Figura 4.7 — Resultados para o FTIR-ATR do sistema 10.

Mais uma vez, e em consonância com todos os resultados obtidos anteriormente, se observa que os picos característicos do grupo amina, nomeadamente a 1550 cm^{-1} , apresentam intensidades superiores às verificadas para o Dextrano. No entanto, não se pode directamente afirmar que tal corresponde a uma maior concentração de PNIPAAm, dada a existência de grupos amina no polissacarídeo.

No entanto, tal como sucedia para os tempos de reacção menores, também para estes sistemas se verifica que os resultados obtidos para os sistemas do capítulo 3 mostram uma maior introdução de PNIPAAm no sistema do que para este caso de iniciação química. Este facto pode ser directamente observado pela intensidade dos picos, verificando-se que esta é sempre superior para os sistemas do capítulo 3 comparativamente aos apresentados anteriormente.

Comparativamente com resultados já apresentados em publicações científicas, verificam-se semelhanças com os traços obtidos anteriormente, verificando-se variações próximas às obtidas com mudanças nas concentrações dos compostos do gel (Lee *et al*, 2004; Lu *et al*, 2006).

No entanto, e tal como sucedeu para o capítulo 3, também aqui os resultados foram inconclusivos, ou seja, não permitiram fazer a distinção entre a formação de

dois homopolímeros ou de um copolímero de enxerto. No entanto, e apesar dessa confirmação não existir, verifica-se que para este caso os géis obtidos eram copolímeros uma vez que a reacção ocorre apenas nos grupos hidroxilo dos compostos, não sendo possível a formação de homopolímero PNIPAAm (Lee *et al*, 2004).

4.3.3. Ressonância Magnética Nuclear do Protão (¹H-RMN)

A técnica da espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) do protão foi utilizada, tal como no capítulo anterior, para verificar e confirmar resultados obtidos por FTIR-ATR.

A figura seguinte apresenta um espectro de RMN de protão obtido para o sistema de base Dextrano com 1 hora de reacção.

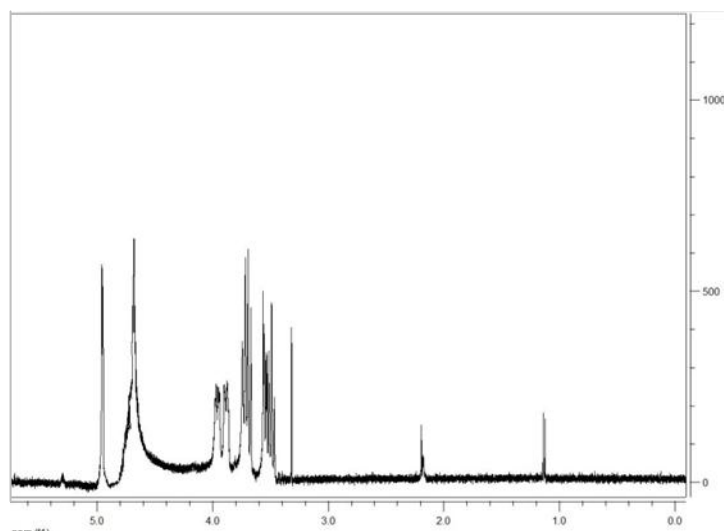


Figura 4.8 — Espectro de ¹H-RMN do sistema de Dextrano com 1 hora de reacção.

Mais uma vez, e comparando com o espectro de Dextrano puro, observam-se diferenças significativas com o início da reacção, indiciando a introdução de PNIPAAm no sistema. Deste modo, o aparecimento de um pico a 1,0 ppm, associado aos grupos CH₃ deste composto, revela o sucesso da reacção. Um caso semelhante pode ser verificado para o sistema de Quitosano com 1 hora de reacção, como pode ser observado na figura seguinte.

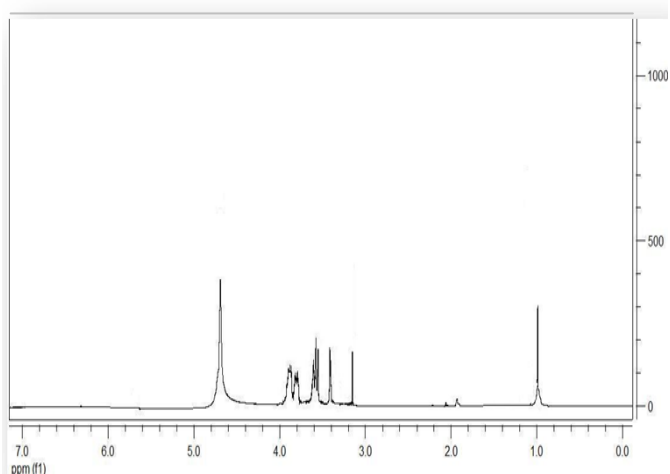


Figura 4.9 — Espectro de ¹H-RMN do sistema de Quitosano com 1 hora de reacção.

Mais uma vez se observa que a principal modificação ocorreu com a introdução de um pico de intensidade moderada a cerca de 1,0 ppm, atribuído aos grupos $-CH_3$ de PNIPAAm. No entanto, comparativamente com o sistema anterior observa-se que a intensidade do pico é ligeiramente superior, denotando uma cinética reaccional inicial mais elevada quando comparada com os sistemas de Dextrano.

Para o sistema de Dextrano com maior tempo de reacção o espectro obtido é o que se apresenta na figura seguinte:

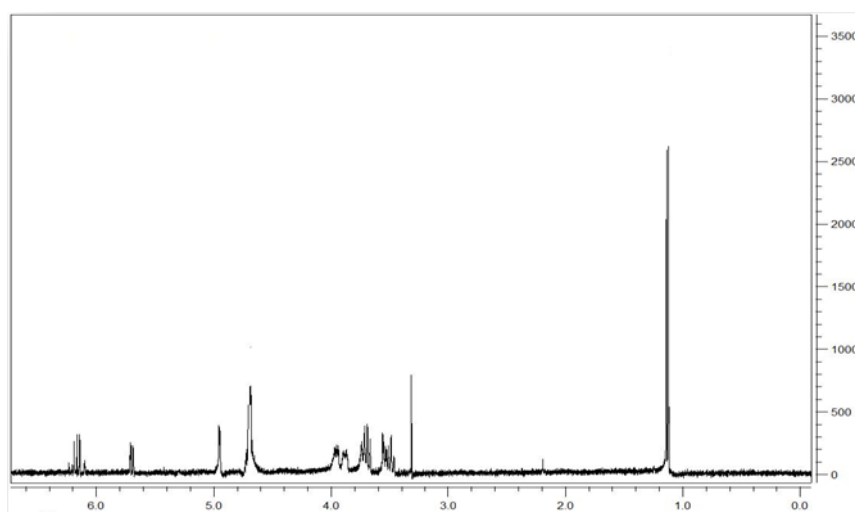


Figura 4.10 — Espectro de ^1H -RMN do sistema de Dextrano com 5 hora de reacção.

Como é possível verificar na figura anterior, observam-se alterações significativas neste espectro quando comparado com o espectro anterior, principalmente na intensidade dos picos associados à presença de PNIPAAm. Deste modo, comparativamente ao caso anterior, onde o pico a 1,0 ppm apresentava uma intensidade de cerca de 200, com o aumento do tempo de irradiação, ocorre um aumento da intensidade do mesmo, para cerca de 2500, o que vem corroborar as conclusões retiradas em secções anteriores, em relação à dependência do tempo de irradiação da amostra e a quantidade final de PNIPAAm introduzida no gel.

Para o sistema de Quitosano com 5 horas de reacção, o espectro obtido foi o que se apresenta na figura seguinte.

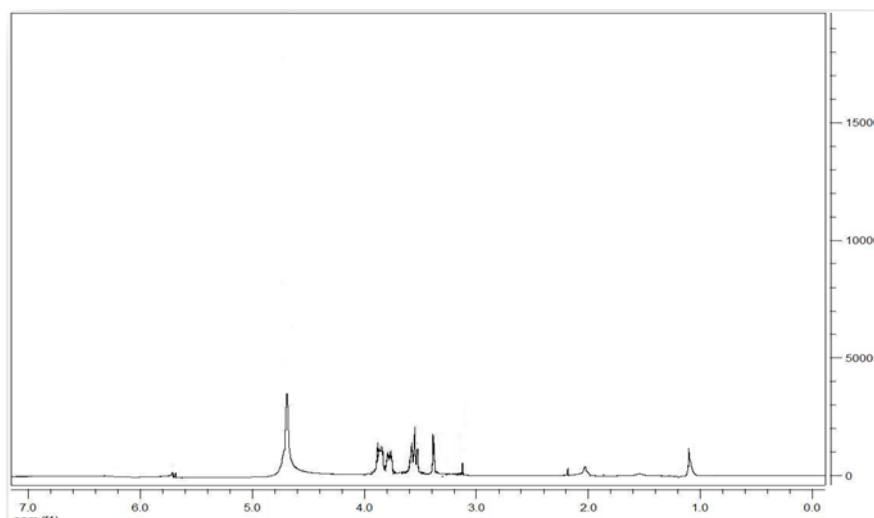


Figura 4.11 — Espectro de ^1H -RMN para o sistema de base Quitosano com 5 horas de irradiação.

Na figura anterior pode observar-se, tal como acontecia para o caso dos géis de base Dextrano, um aumento relativo da intensidade dos picos associados à presença de PNIPAAm, demonstrando assim uma correlação entre o tempo total de reacção da amostra e a sua composição final. No entanto, e ao contrário do que sucedia para baixos tempos de reacção, observa-se, neste caso, que ocorrem diferenças significativas no caso dos resultados relativos à intensidade dos picos de PNIPAAm entre os sistemas de Dextrano e de Quitosano. Assim, os picos para os sistemas de Dextrano apresentam intensidades superiores aos observados para o Quitosano, denotando uma maior concentração de PNIPAAm no sistema. Estes resultados encontram-se em consonância com os verificados anteriormente para a análise elementar e FTIR-ATR.

Reacções semelhantes mostram espectros de ^1H -RMN próximos aos apresentados nesta secção corroborando as conclusões aqui apresentadas (Lee *et al*, 2004; Chuang *et al*, 2010).

Comparando todos os resultados anteriores com os obtidos na secção 3.3.3 do capítulo 3, observa-se que os sistemas preparados com recurso a NCA apresentam intensidades para os picos característicos de PNIPAAm inferiores aos verificados para os de radiação γ . Tal facto, concluído também nas secções anteriores deste capítulo, vem sugerir que a cinética de reacção destes sistemas é mais lenta do que a cinética observada para a radiação γ , facto que leva a uma diminuição na concentração de PNIPAAm final e, conseqüentemente, a picos com menores intensidades.

No entanto, a principal conclusão de todas estas técnicas de caracterização da estrutura dos géis é a de que existe uma relação directa entre o tempo de reacção de cada amostra e a composição final de cada gel. Mais uma vez também neste caso o ^1H -RMN se mostrou inconclusivo quanto à formação de copolímero ou de uma mistura de dois homopolímeros mas, dadas as características deste tipo de reacção com NCA podemos concluir que os resultados são referentes a um copolímero e não a uma mistura física.

4.3.4. Determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)

A determinação da LCST foi, tal como aconteceu no capítulo 3, efectuada segundo o procedimento indicado na secção 2.3.4 dos materiais e métodos, recorrendo ao método espectroscópico, no qual a LCST é determinada através da turvação apresentada pela solução, devida à precipitação de PNIPAAm.

4.3.4.1. Sistemas de base Dextrano

Foram efectuados estudos para todos os sistemas, inclusive para soluções de Quitosano, Dextrano (tal como preparadas no capítulo 2) e PNIPAAm (preparada por irradiação no capítulo 3), para verificar o comportamento das mesmas. A figura 4.12 apresenta os resultados para a solução de Dextrano, PNIPAAm, sistemas 1 e 5.

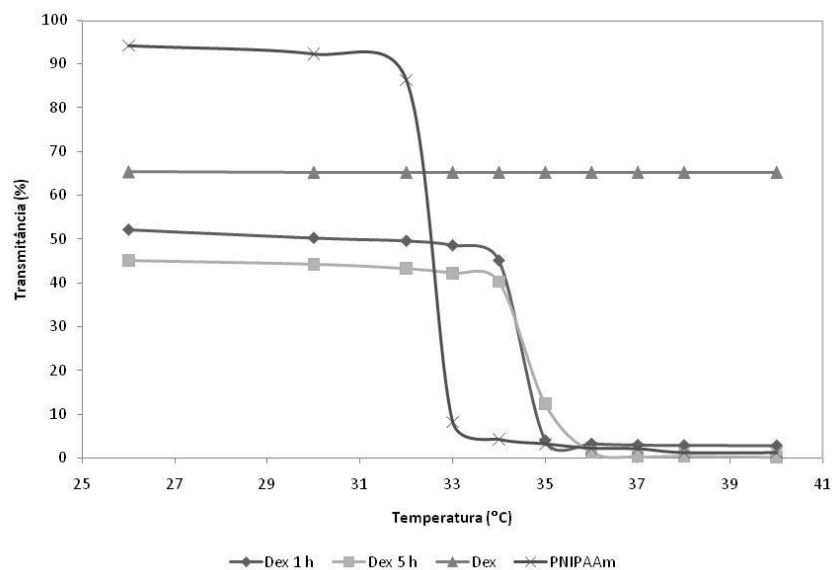


Figura 4.12 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Dextrano, PNIPAAm e sistemas 1 e 5.

A partir da observação da figura anterior, é possível retirar diversas conclusões em relação aos valores de LCST obtidos. Mais uma vez se observa que o polissacarídeo não apresenta qualquer alteração nos valores de transmitância com a temperatura, não exibindo qualquer temperatura crítica de solução. Em relação à PNIPAAm observa-se um comportamento distinto do descrito anteriormente para o Dextrano verificando-se, para temperaturas próximas da temperatura ambiente, 25°C, um comportamento estável nas propriedades ópticas registadas. A solução

apresenta elevados níveis de transmitância, sendo praticamente transparente. No entanto, para as temperaturas compreendidas entre 32 e 33°C, verifica-se uma queda acentuada deste valor, queda essa da ordem dos 90%. Após esta queda, verifica-se uma nova estabilidade, desta vez para valores de transmitância próximos de 0, ou seja, próximos da opacidade total da solução. Para a PNIPAAm, foi possível verificar que o valor para a temperatura de transição foi de aproximadamente 32,5°C em concordância com os estudos efectuados anteriormente (Lu *et al*, 2006).

Em relação ao sistema 1, sistema de Dextrano com PNIPAAm com 1 hora de reacção, é possível observar na figura que este também apresenta uma temperatura crítica de solução inferior, indiciando a introdução de NIPAAm na composição final do gel. No entanto, verifica-se que a transição ocorre a temperaturas mais elevadas do que as determinadas para a solução de PNIPAAm pura. O valor obtido para este sistema foi de aproximadamente 34°C. Mais uma vez se pode associar esta variação da LCST à introdução de um material hidrofílico na solução de PNIPAAm pelas razões descritas na secção 3.3.4 (Lu *et al*, 2006; Cai, *et al*, 2005). A figura anterior permite ainda observar que a transição térmica verificada no sistema 1 não ocorre de forma tão abrupta como a observada para a solução de PNIPAAm. Para o sistema 5, observa-se que a temperatura de transição crítica obtida é ligeiramente superior, sendo aproximadamente de 35°C, sendo esta transição menos acentuada do que as anteriores denotando uma menos homogeneidade da amostra.

Comparativamente aos resultados observados para os sistemas preparados com irradiação γ , observa-se que ambos os géis sintetizados apresentam LCST semelhantes, sendo que, no entanto, se observa que as transições verificadas para os géis preparados com NCA não se encontram tão bem definidas comparativamente às verificadas para os sistemas preparados por radiação γ .

4.3.4.2. Sistemas de base Quitosano

De igual forma, foi efectuado o mesmo estudo, desta vez para os sistemas de base Quitosano. A figura seguinte mostra os resultados obtidos para o Quitosano, PNIPAAm e sistemas 6 e 10.

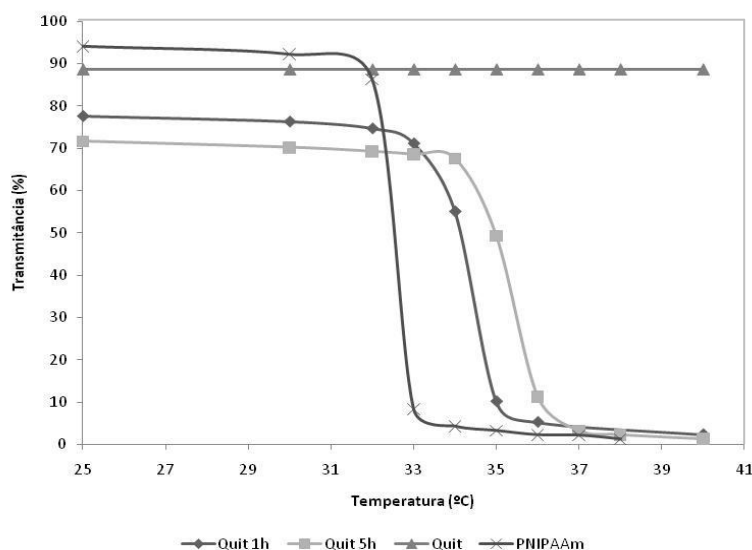


Figura 4.13 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Quitosano, PNIPAAm e sistemas 6 e 10.

Mais uma vez se observa que o Quitosano não apresenta qualquer variação na sua transmitância com o aumento da temperatura, resultado esperado uma vez que este polissacarídeo também não apresenta temperatura crítica de solução. Em relação ao sistema 6 é possível verificar que este já apresenta uma temperatura crítica, determinada em torno dos 33°C. Mais uma vez se observa um aumento na LCST comparativamente à determinada para a PNIPAAm pura, sendo este aumento inferior ao verificado para os sistemas de base Dextrano. Esta diferença ficará a dever-se possivelmente, e tal como referido no capítulo 3, aos diferentes graus de hidrofiliicidade e de peso molecular que cada polissacarídeo apresenta. Ou seja, uma

vez que o Dextrano é comparativamente mais hidrofílico que o Quitosano, a variação da LCST de PNIPAAm é mais significativa para o primeiro do que para o segundo.

Uma conclusão semelhante pode ser retirada para o sistema 10, sistema com 5 horas de reacção. A temperatura de solução aumentou para 34°C, sendo, no entanto, a transição não tão bem definida, abrangendo um intervalo maior de temperaturas. Mais uma vez se observa que este valor é inferior ao obtido para o sistema 5, resultado justificado, tal como no caso anterior, pela diferença entre as hidrofilicidades de cada um dos polissacarídeos-base.

Na literatura foram encontrados sistemas para os quais se observaram temperaturas de transição algo distintas das obtidas neste capítulo (Lee *et al*, 2004), no qual se observou uma diminuição da temperatura crítica de solução, valores que a partida parecem contradizer o que outros estudos demonstram relativamente ao comportamento da temperatura crítica de solução perante materiais hidrofílicos. Relativamente ao Dextrano, os resultados obtidos enquadram-se nos valores descritos por outros estudos (Zhang *et al*, 2004).

Comparativamente aos resultados apresentados no capítulo 3, observa-se que estes são da mesma ordem de grandeza, não ocorrendo grande variação para ambos os métodos. Mais uma vez também, e como salientado nesse capítulo, estes resultados vêm demonstrar que é possível fazer variar a LCST de PNIPAAm, aproximando-a mais da temperatura normal do corpo humano e permitindo a sua utilização em diversas situações.

4.3.5. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água

Novamente foi determinada a capacidade de absorção de água, por forma a verificar se os géis obtidos apresentavam características de hidrogel, tendo para tal de apresentar absorções de água superiores a 10% do total do seu peso seco.

4.3.5.1. Sistemas de base Dextrano

Inicialmente foram efectuados os estudos de absorção de água para cada sistema sintetizado. Na figura 4.14 estão indicadas a variação da absorção de água dos sistemas com o tempo.

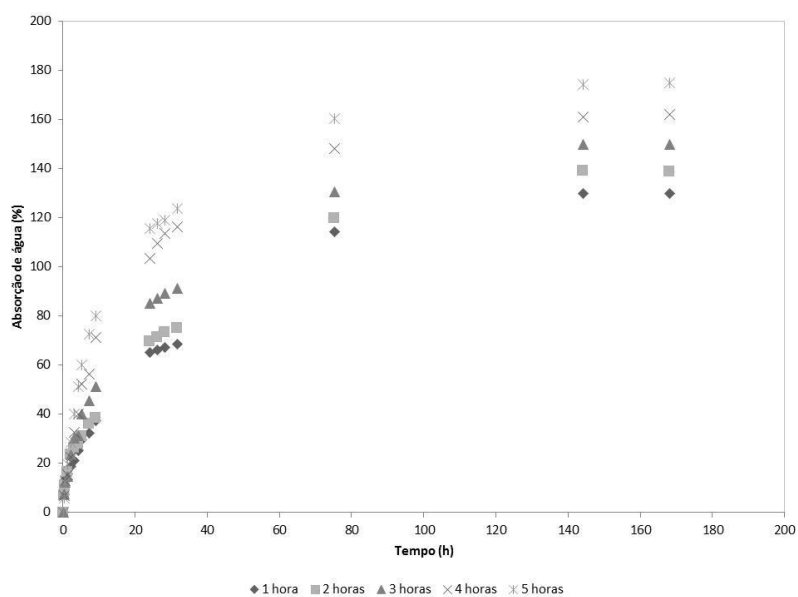


Figura 4.14 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 25°C.

Da observação da figura anterior pode salientar-se que todos os sistemas apresentam valores de capacidades de absorção de água elevados, superiores a 100%, sendo por isso considerados como hidrogéis superabsorventes. Tal como foi referido no capítulo 3, a justificação para todos estes valores elevados de absorção de água reside na elevada hidrofiliabilidade que o Dextrano apresenta e do seu peso molecular elevado. Verifica-se também que ocorre uma dependência dos valores de absorção de água com o tempo de reacção, sendo o sistema 5, com mais tempo de reacção, aquele que apresenta o maior valor para esta característica. Tal facto, como foi também referido no capítulo 3, pode ser explicado do mesmo modo, ou seja, por um aumento da hidrofiliabilidade do sistema com a adição de NIPAAm. No entanto, é de referir que, comparativamente, os valores encontrados para os sistemas obtidos por iniciação química são inferiores aos encontrados no capítulo anterior. Este facto pode ser relacionado com a diminuição na quantidade total de NIPAAm que foi introduzida, reduzindo, deste modo, a hidrofiliabilidade dos sistemas de iniciação química e, conseqüentemente, a sua capacidade de absorção de água.

Para os valores obtidos anteriormente, foi determinado o expoente característico da cinética de absorção de água idêntico ao efectuado no capítulo 3.

A tabela seguinte resume todos os valores obtidos para os expoentes cinéticos da difusão de água e de correlação para todos os sistemas de base Dextrano testados.

Tabela 4.III — Resultados obtidos para o expoente característico da difusão de água e o coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Dextrano.

	<i>n</i>	Coefficiente de Correlação
Sistema 1	0,512	0,933
Sistema 2	0,539	0,945
Sistema 3	0,553	0,970
Sistema 4	0,591	0,986
Sistema 5	0,590	0,989

A tabela anterior mostra que, tal como sucedia para os sistemas apresentados no capítulo 3, todos os sistemas têm expoentes semelhantes e próximos de 0,5. Estes valores foram obtidos com regressões lineares, onde o coeficiente de correlação foi sempre próximo da unidade. Estes valores, tal como referido anteriormente, permitem verificar que a absorção de água ocorre predominantemente de forma difusional para o interior dos géis (Peppas, 1985; Espenson, 1995). Comparativamente aos resultados obtidos no capítulo 3, verifica-se que são semelhantes os valores obtidos, pelo que se pode concluir que o processo de absorção de água é independente do método de polimerização utilizado na preparação dos géis.

Um estudo semelhante foi efectuado para temperaturas mais elevadas por forma a avaliar a influência da mesma nesta característica. A figura 4.15 mostra os resultados obtidos para a variação da absorção de água com o tempo para todos os sistemas colocados a 37°C.

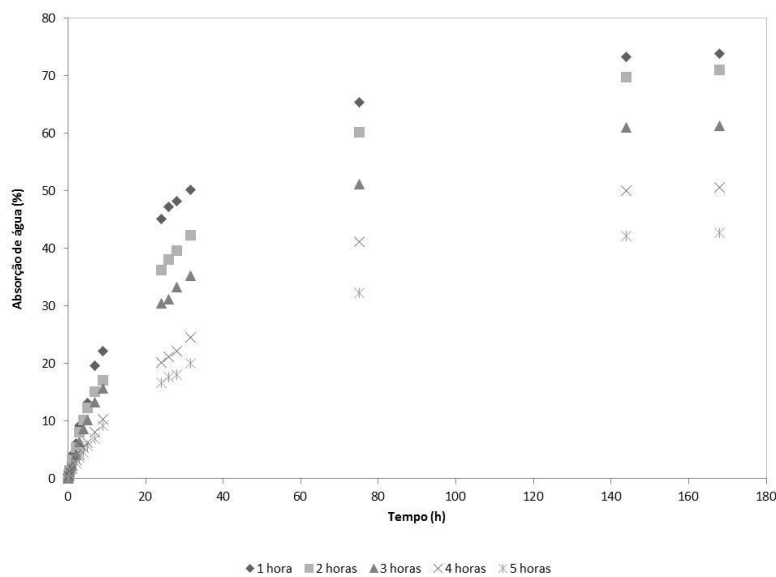


Figura 4.15 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 37°C.

Na figura anterior, observa-se que, para todos os sistemas sem excepção, os valores de absorção de água são superiores a 10%, o que sugere que estamos na presença de hidrogéis. Verifica-se que, comparando com os sistemas colocados abaixo da LCST, estes apresentam valores muito inferiores aos observados anteriormente. Tal facto revela termodependência dos géis obtidos, consequência da introdução de NIPAAm nos géis. Deste modo, verifica-se que os sistemas com maior variação na capacidade de absorção de água são os que possuem maior concentração de NIPAAm na sua estrutura, ou seja, os sistemas em que houve maior tempo de reacção. Deste modo, e ao contrário do que sucedia a temperaturas inferiores à LCST, observa-se que a capacidade de absorção de água vai diminuindo com o aumento do tempo de reacção, e com o consequente aumento da concentração em NIPAAm. Mais uma vez, a agregação e gelificação sofrida pelo gel, devido à presença de PNIPAAm pode estar na origem deste facto, não permitindo uma maior entrada de água para o interior do gel. O consequente aumento da hidrofobicidade do gel leva também a uma menor absorção de água.

Comparativamente aos resultados obtidos no capítulo 3, observa-se que estes são semelhantes aos obtidos para os géis aqui apresentados. No entanto, se forem comparados todos os resultados, abaixo e acima da LCST, observa-se que há uma maior variação nos valores para os sistemas preparados por radiação γ . A maior concentração de NIPAAm para os géis preparados por radiação justifica pois, tal como foi referido no capítulo 3 a sua maior termossensibilidade. Se, para além disso associarmos os menores valores de absorção de água que os sistemas de preparação por iniciação química apresentam, obtém-se a explicação para o facto de, a 37°C, os resultados para ambos os sistemas serem semelhantes.

De forma idêntica, também, neste caso, foi efectuado um estudo para determinar os expoentes característicos da difusão de água de cada sistema. Na tabela seguinte encontram-se resumidos os valores obtidos para os expoentes de difusão e coeficientes de correlação para todos os sistemas.

Tabela 4.IV — Resultados obtidos para o expoente característico da difusão de água e coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Dextrano a 37°C.

	<i>n</i>	Coefficiente de Correlação
Sistema 1	0,682	0,955
Sistema 2	0,699	0,964
Sistema 3	0,707	0,964
Sistema 4	0,721	0,980
Sistema 5	0,736	0,959

Uma vez mais, observa-se que os coeficientes de correlação obtidos para todos os sistemas em estudo foram próximos da unidade, indiciando uma boa aproximação através do método utilizado. Relativamente ao valor de *n*, verifica-se que este varia entre 0,68 e 0,74, sendo valores mais elevados do que os obtidos a temperatura abaixo da LCST. Tal como sucedia no capítulo 3, este aumento de *n*, indicia uma maior dependência da difusão com a estrutura do gel, nomeadamente, a sua relaxação, ou seja dependente com a temperatura, dada a relação destas propriedades com a temperatura a que decorre o ensaio. Assim se podem justificar os valores elevados obtidos para o sistema 5, que apresenta maior concentração em NIPAAm na sua estrutura. Comparativamente ao que foi apresentado no capítulo 3, observa-se que os valores obtidos são semelhantes, sugerindo que, apesar das diferenças na quantidade de NIPAAm total introduzida no sistema, não há grande variação nos valores de *n* obtidos.

Seguidamente foi efectuado o estudo referente à libertação de água dos géis. Este estudo permitiu, tal como sucedeu anteriormente, determinar a quantidade total de água que o gel foi capaz de libertar e a capacidade de absorção de água determinada através da expressão 2.1 apresentada na secção 2.3.5. Os ensaios foram efectuados após os de absorção, por colocação dos géis ao ar livre e à temperatura de 25°C. A figura seguinte apresenta os resultados obtidos para todos os sistemas estudados. Os resultados foram normalizados, por forma a poder-se comparar a evolução de todos.

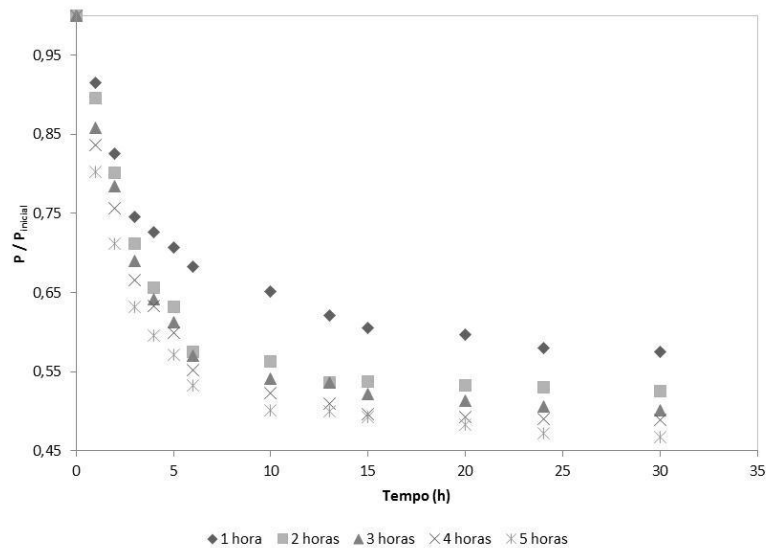


Figura 4.16 — Variação da libertação de água com o tempo, para todos os sistemas de base Dextrano, a 25°C.

A figura 4.16 mostra claramente uma libertação acentuada de água na fase inicial do ensaio, observando-se após uma fase mais lenta e uma gradual estabilização no total libertado, sendo que não se observa qualquer variação de peso da amostra após a 30ª hora de ensaio. Para além disso, verifica-se que a quantidade de água libertada varia com o tempo de reacção de cada amostra, sendo o sistema com maior tempo de irradiação o que apresentou uma maior quantidade de água libertada, cerca de 60% do total introduzido. Tal facto pode ser explicado devido a um possível maior afastamento das cadeias poliméricas, devido ao aumento das cadeias de PNIPAAm entre as de Dextrano, permitindo uma maior libertação de água do seu interior.

Comparativamente aos resultados obtidos no capítulo 3, observa-se que a libertação de água, neste caso, ocorre de forma mais lenta do que sucedia para os géis preparados por irradiação. Possivelmente, a maior quantidade de NIPAAm introduzida por esse método levou a um afastamento médio das cadeias poliméricas

superior aos observados para este caso, o que permitiu uma libertação de água mais acentuada e rápida nos géis irradiados. No entanto, apesar de apresentarem libertações mais rápidas, verifica-se que no global, o total de água retida no interior, e consequentemente não libertada, é semelhante nas duas situações, apesar de ligeiramente superior para este caso, indiciando uma independência desta característica com o total de NIPAAm no sistema. Esta situação poderá estar mais relacionada com o elevado peso molecular do Dextrano utilizado e, consequentemente, um maior número de ligações entre o polissacarídeo e a água.

De igual forma, para a determinação rigorosa do peso do gel totalmente inchado, foi necessário efectuar uma regressão linear aos valores obtidos para os primeiros 10 minutos de libertação, determinando-se, através da recta obtida, qual o peso do composto inchado. A tabela seguinte apresenta todos os resultados obtidos para os diferentes sistemas.

Tabela 4.V — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Dextrano.

Sistema	Capacidade de inchaço (%)
1	135
2	141
3	153
4	168
5	181

A partir da tabela anterior, é possível concluir que todos os valores determinados matematicamente estão de acordo com os obtidos durante os ensaios de absorção de água. No entanto, observa-se que estes não são valores idênticos, dado que, para os valores obtidos na absorção de água, alguma libertação ocorreu entre o fim do ensaio e a medição do peso da amostra. No entanto, globalmente, os valores são semelhantes, observando-se uma maior capacidade de absorção de água para o sistema com maior tempo de reacção. Mais uma vez e tal como tinha sido salientado anteriormente, em relação aos valores obtidos no capítulo 3, observa-se

uma diminuição da capacidade de absorção de água destes sistemas, directamente relacionada com a menor quantidade de NIPAAm no sistema e, conseqüentemente, menor hidrofiliçidade do mesmo, já que para esta temperatura, o copolímero se encontra na sua fase hidrofílica.

Efectuou-se um estudo idêntico a 37°C para observar qual a influência da temperatura no comportamento final do sistema relativamente à libertação de água. A figura 4.17 apresenta os resultados obtidos para todos os sistemas de base Dextrano.

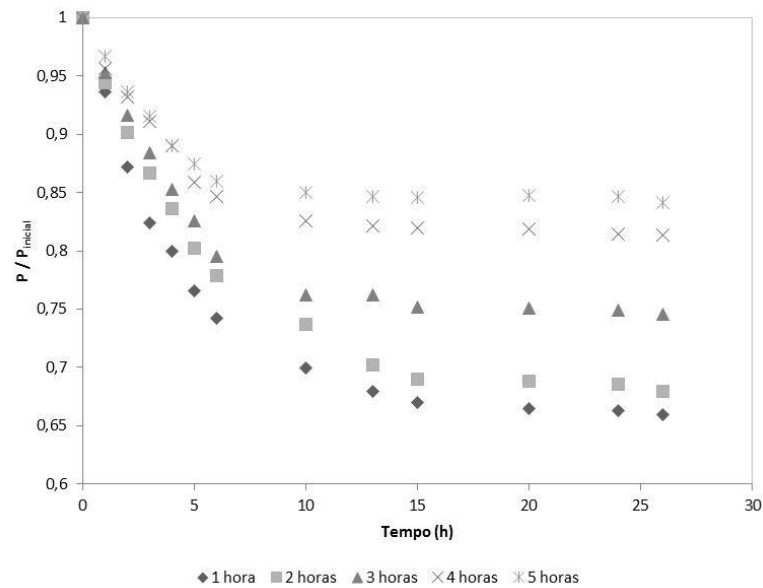


Figura 4.17 — Variação da libertação de água com o tempo para os sistemas de base Dextrano a 37°C.

Mais uma vez, e tal como se observou para a absorção de água, verifica-se uma diferença acentuada nos resultados obtidos para temperaturas superiores a LCST denotando uma clara dependência das propriedades com a temperatura observada pela diminuição acentuada na quantidade de água libertada. As variações verificadas aproximam-se dos 50 a 60%, estando directamente relacionadas com a quantidade de NIPAAm em cada sistema. Deste modo, e dada a agregação da PNIPAAm com a temperatura, ocorre uma maior retenção de água no interior, sendo

a libertação da mesma dificultada pelas cadeias precipitadas do copolímero. De facto, verifica-se que quanto maior o tempo de reacção de cada amostra, e consequente aumento da concentração de NIPAAm no gel, menor a água libertada pela amostra. Deste modo, o sistema 5 é o que apresenta a menor libertação de água de todos os sistemas, contrastando com os resultados obtidos para baixas temperaturas.

Comparativamente aos resultados obtidos para os hidrogéis descritos no capítulo 3, verifica-se que, apesar dos sistemas obtidos por este método apresentarem libertações mais lentas, apresentam no entanto, maior quantidade de água libertada no final do ensaio. Este facto pode estar relacionado com a quantidade de NIPAAm introduzida nos diferentes sistemas, dado que, para estes géis, essa quantidade é inferior e, consequentemente, estes apresentam menores dependências da temperatura. Desta forma, há uma menor aglomeração das cadeias poliméricas e, consequentemente, menor retenção de água no interior dos géis. Resultados semelhantes foram obtidos para sistemas com NIPAAm verificam-se uma diminuição acentuada da capacidade de inchaço com o aumento da temperatura do ensaio (Alvarez-Lourenzo & Concheiro, 2002).

Foi também determinada a capacidade de absorção de água por via matemática recorrendo à expressão 2.1, apresentada na secção 2.3.5, apresentando-se na tabela seguinte os resultados.

Tabela 4.VI – Valores matemáticos obtidos para a absorção de água a 37°C.

Sistema	Capacidade de Inchaço (%)
1	77
2	72
3	63
4	52
5	43

Tal como se verificou para 25°C, também neste sistema se observou uma semelhança entre os valores obtidos experimentalmente e os valores matemáticos. No entanto, e em consonância com o caso anterior, também a 37°C os valores matemáticos são ligeiramente superiores aos experimentais, podendo, no entanto, explicar-se a diferença da mesma forma que para os géis a 25°C. Para além disso, observa-se que os valores de capacidade de absorção de água são superiores neste caso aos obtidos no capítulo 3, tendo a justificação para tal sido dada anteriormente neste capítulo.

4.3.5.2. Sistemas de base Quitosano

Tal como nos sistemas de base Dextrano, um estudo igual ao apresentado na secção anterior foi efectuado para os sistemas de base Quitosano. Primeiramente, foi determinada a variação do peso colocada em atmosfera saturada de água a 25°C e determinada a capacidade de absorção de água. Os resultados encontram-se na figura 4.18.

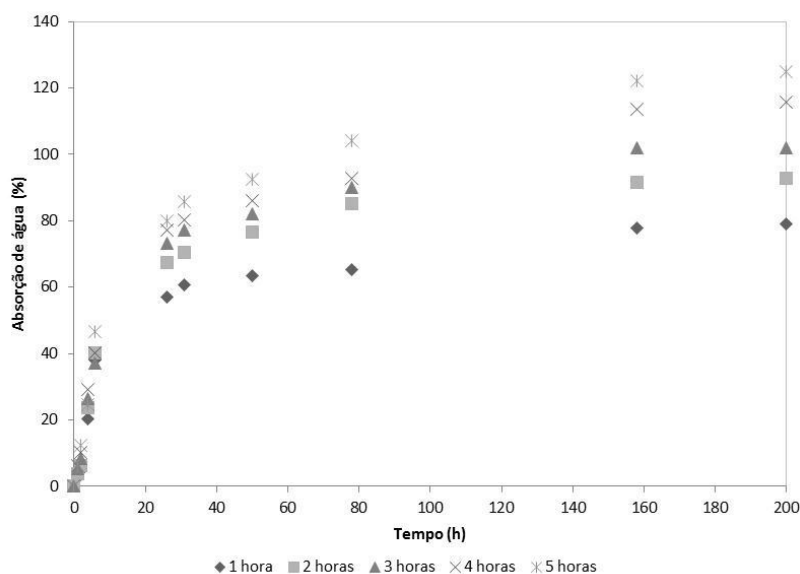


Figura 4.18 — Variação da percentagem de absorção de água com o tempo para os sistemas de base Quitosano a 25°C.

A partir da figura anterior, pode concluir-se que, em todos os sistemas, existem valores elevados de absorção de água, variando entre os 70 e os 120% aproximadamente, o que permite classificar todos os sistemas como hidrogéis. Tal como sucedia com os géis preparados por radiação γ , verifica-se que os valores obtidos para os sistemas de Quitosano, em iguais condições, são inferiores aos dos sistemas de base Dextrano, justificado mais uma vez pela diferença de hidrofílicidades dos dois materiais e de pesos moleculares entre ambos. Verifica-se também a dependência desta propriedade com o tempo de reacção e, consequentemente, da quantidade de NPAAm introduzida, sendo a sua justificação em tudo semelhante à apresentada para os sistemas de base Dextrano.

De forma idêntica foi efectuada a modelização por forma a obter o expoente característico de absorção de água para cada sistema. A tabela seguinte resume os resultados obtidos.

Tabela 4.VII — Resultados obtidos para os expoentes característicos de difusão de água e coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Quitosano a 25°C.

	n	Coefficiente de Correlação
Sistema 6	0,521	0,985
Sistema 7	0,529	0,987
Sistema 8	0,541	0,996
Sistema 9	0,552	0,954
Sistema 10	0,565	0,978

Tal como no caso dos sistemas de base Dextrano, também os de Quitosano apresentaram valores para o n muito próximos de 0,5, indicativo de uma absorção de água predominantemente de forma difusional. No entanto, verifica-se que, para este caso, os valores são ligeiramente superiores aos obtidos para os sistemas de Dextrano e aos sistemas apresentados no capítulo 3.

Também para estes sistemas foi efectuado o estudo semelhante, mas a 37°C, por forma a verificar a variação desta propriedade com o aumento da temperatura. A figura 4.19 apresenta a evolução da percentagem de água absorvida por cada sistema em função do tempo de ensaio.

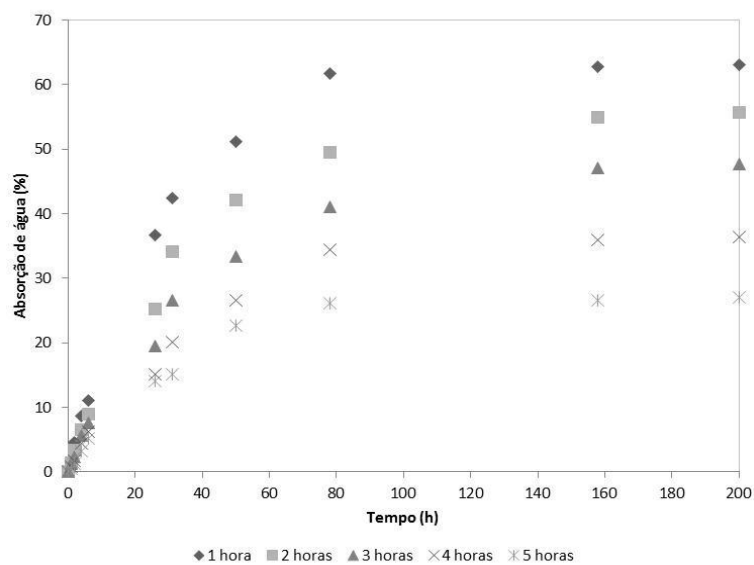


Figura 4.19 — Evolução da percentagem de água absorvida por cada sistema a 37°C.

Os resultados indicados na figura 4.19 mostram que, tal como sucedia para os sistemas de base Dextrano, existe uma clara diferença entre o comportamento apresentado por cada sistema a 25°C e a 37°C denotando uma dependência das propriedades dos copolímeros em relação à temperatura a que se encontram submetidos. Observa-se uma diminuição acentuada da percentagem de água absorvida por cada sistema quando colocado a uma temperatura superior à LCST determinada denotando o seu comportamento termodependente. Deste modo, verifica-se que, tal como sucedia no caso do Dextrano, os sistemas com maior percentagem de NIPAAm são os sistemas que apresentam variações mais significativas no seu comportamento.

É de salientar que neste caso as variações da percentagem de absorção de água entre 25°C e 37°C são inferiores às observadas para os mesmos sistemas preparados por irradiação. Este facto pode ser explicado uma vez que os sistemas caracterizados no capítulo 3 apresentam maior concentração de NIPAAm e, conseqüente, maior termodependência. Com o aumento da temperatura acima da LCST ocorre um aumento maior da hidrofobicidade dos mesmos, dada a mais elevada concentração de NIPAAm e maior variação na percentagem de absorção de água.

Para a modelização, os resultados obtidos foram os que se apresentam na tabela seguinte:

Tabela 4.VIII — Resultados obtidos para o expoente característico de difusão e o coeficientes de correlação para todos os sistemas de base Quitosano a 37°C.

	<i>n</i>	Coefficiente de Correlação
Sistema 6	0,681	0,978
Sistema 7	0,685	0,964
Sistema 8	0,693	0,989
Sistema 9	0,708	0,956
Sistema 10	0,711	0,974

Mais uma vez e em consonância com os resultados obtidos anteriormente, verifica-se que o método de linearização se adequa aos valores obtidos experimentalmente, traduzindo-se esse facto por coeficientes de correlação

próximos da unidade. Relativamente aos resultados obtidos para o expoente cinético de difusão de água nos sistemas testados, observa-se que estes valores são comparativamente mais elevados do que os obtidos a 25°C, sendo a sua justificação semelhante à apresentada anteriormente. Tal como sucedia para o Dextrano, também no Quitosano se verificam na literatura comportamentos semelhantes aos descritos neste trabalho, revelando as diferenças entre absorções acima e abaixo a LCST (Lee *et al*, 2004).

Em seguida, e de forma idêntica ao sucedido para os sistemas de base Dextrano, foi efectuado o estudo de libertação de água para todos os sistemas. Os resultados para os sistemas colocados à temperatura de 25°C encontram-se na figura seguinte:

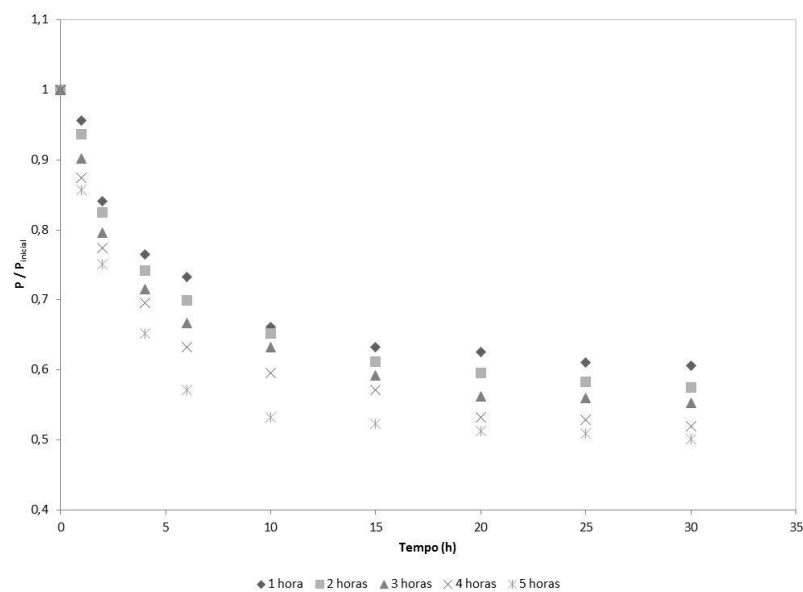


Figura 4.20 — Variação da libertação de água com o tempo para todos os copolímeros de base Quitosano, a 25°C.

A partir da figura anterior, é possível concluir que todos os copolímeros apresentam um comportamento semelhante apresentando uma primeira fase de libertação mais acelerada seguida de uma de estabilização, podendo dizer-se que a libertação termina após 30 horas de ensaio. Este padrão assemelha-se também ao obtido anteriormente para os sistemas de base Dextrano, sendo, no entanto, a quantidade de água libertada ligeiramente inferior quando comparada com os resultados para cada copolímero de base Dextrano. Mais uma vez é possível verificar, que os copolímeros com menor percentagem de NIPAAm apresentam valores mais baixo de libertação de água, podendo este resultado ser explicado de forma semelhante ao caso do Dextrano.

Recorrendo à expressão 2.1 apresentada na secção 2.3.5, foi possível determinar rigorosamente os valores para a capacidade de absorção de água de cada sistema, sendo esses resultados compilados na tabela seguinte:

Tabela 4.IX — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Quitosano a 25°C.

Sistema	Capacidade de inchaço (%)
6	81
7	93
8	105
9	116
10	127

Na tabela anterior pode observar-se que, comparativamente com os resultados obtidos experimentalmente e previamente apresentados, os valores obtidos são ligeiramente superiores. Tal facto pode ser explicado, tal como para o caso do Dextrano, por alguma libertação de água que poderia ocorrer entre o fim do ensaio e a medição do peso de cada gel, levando a uma redução do mesmo. No entanto, esta diferença de valores é mínima pelo que se pode ignorar.

Relativamente aos resultados propriamente ditos, registou-se um aumento gradual na variação da capacidade de absorção de água com o tempo de reacção, aumento justificado novamente pela maior quantidade de NIPAAm no sistema e, conseqüente maior hidrofiliçidade do mesmo. É de salientar, mais uma vez, que, para as mesmas condições de reacção, os valores obtidos para os sistemas de base Quitosano são inferiores aos obtidos para os sistemas de base Dextrano. Esta diferença, já esperada, pode ser justificada pela diferença significativa de hidrofiliçidade de ambos os materiais e, novamente, pela diferença de peso molecular entre ambos os materiais. Relativamente a estudos semelhantes na literatura, verifica-se que os valores obtidos para a capacidade de absorção de água são semelhantes aos aqui apresentados (Lee *et al*, 2004).

Comparativamente com os mesmos resultados para os géis preparados por radiação γ , observa-se que estes apresentam valores ligeiramente superiores aos apresentados na tabela anterior, resultado consistente com o aumento de NIPAAm para os géis preparados por irradiação.

No caso das experiências realizadas a 37°C, os resultados obtidos para a libertação de água estão representados na figura 4.21.

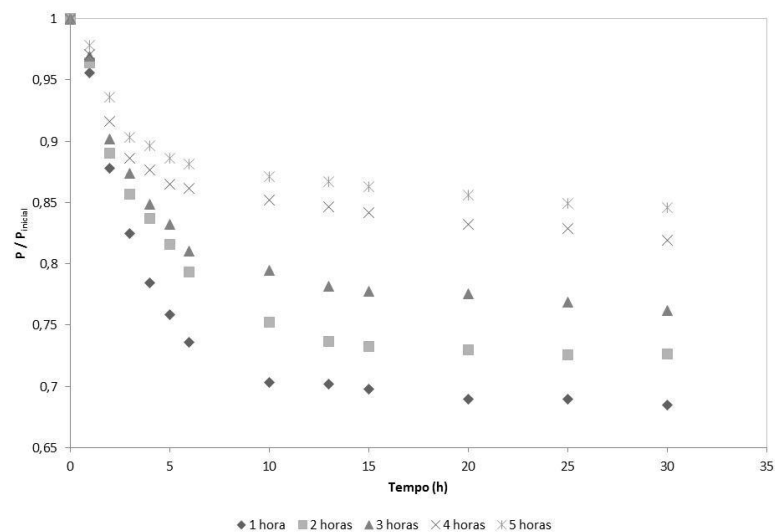


Figura 4.21 — Variação da libertação de água com o tempo para todos os sistemas de base Quitosano a 37°C.

Mais uma vez se observam diferenças substanciais nos resultados obtidos para os mesmos sistemas a temperaturas diferentes, denotando o carácter termossensível dos géis obtidos. A libertação ocorre, principalmente na fase inicial, onde há uma diminuição de peso acentuada para todos os géis, denotando rápida libertação de água para o exterior. Este comportamento pode novamente ser associado à presença de NIPAAm e à sua gelificação com a temperatura, levando a que as moléculas de água presentes na mesma sejam expelidas de forma imediata e não de forma progressiva como acontecia a temperaturas abaixo da LCST. Para além disso, verifica-se que a quantidade total de água libertada diminui drasticamente, uma vez que parte dela fica retida no interior do gel devido à aglomeração das cadeias poliméricas. Assim, verifica-se que para os géis com maior percentagem de NIPAAm, ocorre uma maior retenção de água devido ao motivo anteriormente exposto. Deste modo se justificam os baixos valores para o total de água libertada quando comparada com os mesmos sistemas a 25°C.

Os valores matemáticos obtidos através do recurso à expressão 2.1 são os apresentados na tabela seguinte:

Tabela 4.X — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Quitosano a 37°C.

Sistema	Capacidade de inchaço (%)
6	65
7	57
8	48
9	38
10	32

Mais uma vez, e em consonância com os resultados previamente apresentados, verifica-se que os valores matemáticos obtidos são ligeiramente superiores aos obtidos durante os ensaios de absorção de água já discutidos

anteriormente. De igual forma, a justificação apresentada para essas diferenças nos casos anteriores é idêntica para esta situação. É de salientar que, tal como acontecia para os resultados experimentais, também aqui se observa que os copolímeros de base Quitosano com maior percentagem de NIPAAm apresentam valores de absorção de água superiores aos de base Dextrano, o que contraria o que foi dito anteriormente relativamente à hidrofiliabilidade de cada material-base. No entanto, esta variação pode ser justificada uma vez que os sistemas de base Dextrano apresentam maiores valores de NIPAAm do que os de Quitosano e conseqüentemente uma maior hidrofobicidade. A mesma justificação pode ser aplicada quando se comparam os resultados obtidos para os sistemas do capítulo 3, que, por apresentarem maiores concentrações de NIPAAm e, conseqüente, maior termossensibilidade, possuem valores mais baixos de capacidade de inchaço.

4.3.6. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície

A determinação dos ângulos de contacto da água com o material permite, mais uma vez, calcular qual o grau de hidrofobicidade/hidrofiliabilidade de cada sistema e, para além disso, quais as respectivas energias de superfície, por forma a avaliar a sua capacidade de adesão à pele e a sua biocompatibilidade.

4.3.6.1. Sistemas de base Dextrano

Na tabela seguinte estão indicados os valores dos ângulos de contacto entre a água e os géis.

Tabela 4.XI — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 25°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
1	71,5
2	69,7
3	66,3
4	63,8
5	61,5

Os resultados indicados na tabela anterior mostram que os valores dos ângulos de contacto obtidos entre a água e o copolímero são relativamente baixos, estando de acordo com os resultados obtidos com os da capacidade de absorção de água, denotando a hidrofiliçidade de cada sistema. Mais uma vez se salienta uma diminuição nos valores obtidos para os ângulos de contacto com o aumento da percentagem de NIPAAm, levando, a esta temperatura, a um aumento na hidrofiliçidade do sistema. Comparativamente com os géis obtidos por irradiação, verifica-se que os resultados obtidos são ligeiramente inferiores aos encontrados no capítulo anterior, resultado em linha com o esperado, dada a diminuição da hidrofiliçidade dos sistemas devida a uma diminuição do total de NIPAAm introduzido.

Com o aumento da temperatura, e dado o carácter termodependente dos géis obtidos, observaram-se diversas alterações aos valores do ângulo de contacto com a água obtido. Os resultados encontram-se na Tabela 4.XII.

Tabela 4.XII — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 37°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
1	104,6
2	108,6
3	114,9
4	118,9
5	125,6

De acordo com a Tabela 4.XII, verifica-se que todos os sistemas apresentam valores elevados para o ângulo de contacto com a água determinado, denotando um aumento na sua hidrofobicidade, resultado semelhante ao obtido para a capacidade de absorção de água, apresentada na secção 4.3.5. É de salientar, mais uma vez, o carácter termodependente dos géis obtidos, uma vez que, a um aumento da temperatura para valores superiores aos da LCST determinada, se observa uma diferença drástica da hidrofobicidade do material. Esta evidência é ainda mais salientada quando se verifica que, com o aumento da concentração de NIPAAm no sistema, maiores são as diferenças obtida entre os resultados obtidos para as temperaturas testadas.

Comparativamente aos resultados obtidos no capítulo 3, verifica-se que a variação do valor dos ângulos de contacto com a água não é tão acentuada para os géis preparados com NCA. Tal resultado, como já foi explicado anteriormente, pode ficar a dever-se à menor quantidade de NIPAAm que este método permite introduzir no sistema, daí que, com a temperatura, este apresente um carácter menos termossensível do que os géis preparados por irradiação.

Para a determinação dos valores para a energia de superfície de cada gel foi efectuado um procedimento semelhante ao referido no capítulo 3 (método de Owens-Wendt-Rabel e Kaelble), utilizando novamente a água, formamida, etilenoglicol e propilenoglicol (Venkatraman & Gale, 1998). Os resultados para a energia de superfície de cada sistema e respectivas componentes polares e dispersiva encontram-se na tabela seguinte:

Tabela 4.XIII — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 25°C.

Sistema	Energia de Superfície (mN/m)	γ_s^P (mN/m)	γ_s^D (mN/m)
1	29,3	20,7	8,6
2	30,2	21,7	8,5
3	30,9	22,9	8,0
4	31,2	23,6	7,6
5	32,5	25,1	7,4
Pele	38-56	-	-

Como se pode observar na tabela anterior e mais uma vez, os resultados obtidos mostram que, para todos os géis estudados, a componente polar destes é superior à componente dispersiva. Este resultado encontra-se em consonância com tudo o que foi referido anteriormente, uma vez que esta é uma característica de sistemas com elevado grau de hidrofiliçidade. Não é, pois, de estranhar que, com o aumento do tempo de reacção, se observe um aumento desta componente, consequência do aumento da hidrofiliçidade total do sistema, já referida para a capacidade de absorção de água. Este resultado demonstra que as interacções observadas entre o líquido e o gel são interacções mais entre dipolos permanentes e induzidos ou mesmo entre ligações de hidrogénio. Para além disso, observa-se que os valores obtidos para a energia de superfície são inferiores, em todos os casos, aos determinados para a pele. Este facto permite afirmar que as forças adesivas do gel com a pele serão superiores às forças coesivas do próprio gel. Tal facto vai permitir a adesão e o espalhamento do gel na pele.

Comparativamente aos resultados obtidos para os géis referenciados no capítulo 3, verifica-se que ocorre uma diminuição ligeira dos valores da componente polar para os géis apresentados neste capítulo, consequência da ligeira diminuição de hidrofiliçidade destes sistemas devida a uma redução no total de PNIPAAm introduzido.

Para a temperatura de 37°C o estudo efectuado foi semelhante ao anterior e os resultados obtidos foram os seguintes:

Tabela 4.XIV — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.

Sistema	Energia de Superfície (mN/m)	γ_s^P (mN/m)	γ_s^D (mN/m)
1	25,3	17,0	8,3
2	25,0	16,3	8,7
3	24,8	15,9	8,9
4	24,7	15,5	9,2
5	24,4	14,7	9,7
Pele	38-56	-	-

Da tabela anterior é possível concluir que existem grandes diferenças de valores obtidos quando comparados com os valores obtidos para temperaturas inferiores à LCST. Deste modo, observa-se um aumento da componente dispersiva do gel, nomeadamente com o tempo de reacção, devido ao carácter termossensível dos géis e consequente aumento da hidrofobicidade dos mesmos. No entanto, apesar deste aumento, a componente polar dos géis apresentou valores superiores à componente dispersiva, o que é justificado pela hidrofiliabilidade apresentada pelos géis, nomeadamente o seu elevado peso molecular. Estas variações podem ser justificadas novamente pela presença de NIPAAm, que, por agregação, diminui as interações polares entre as moléculas do gel e as do líquido. No entanto, e apesar destas alterações inerentes à transição térmica sofrida pelo gel, os valores obtidos para a energia de superfície permitem verificar que os géis irão, em contacto com a pele, ter um comportamento adesivo, permitindo por isso a possível libertação do fármaco na pele.

Comparativamente com os sistemas apresentados no capítulo 3, verifica-se que ambos apresentam comportamentos semelhantes, com as variações nos valores das componentes polar e dispersiva a reflectirem o carácter termossensível dos mesmos. No entanto, e tal como já foi salientado neste capítulo, a diminuição da percentagem total de PNIPAAm nos sistemas deste capítulo leva a uma diminuição do carácter termossensível dos mesmos, pelo que se verifica que as variações das

diferentes componentes com a temperatura são ligeiramente inferiores às observadas para os géis preparados por irradiação.

4.3.6.2. Sistemas de base Quitosano

De igual modo foi efectuado um estudo com os sistemas de base Quitosano. A tabela seguinte apresenta os valores obtidos para os ângulos de contacto com a água e os géis.

Tabela 4.XV — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 25°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
1	74,7
2	73,6
3	72,7
4	72,2
5	71,7

Os valores indicados na tabela anterior mostram que os ângulos de contacto obtidos com a água apresentam valores relativamente baixos, mostrando a hidrofiliidade de cada sistema. Comparativamente com o resultado obtido para o Dextrano, observa-se um aumento dos valores dos ângulos de contacto, traduzindo um aumento de hidrofobicidade, aumento esse devido às características mais hidrofóbicas do Quitosano e ao seu peso molecular mais baixo comparativamente ao Dextrano. Mais uma vez este resultado se encontra em consonância com aquele que foi obtido anteriormente na secção 4.3.5.2, relativamente à absorção de água pelo copolímero. Mais uma vez se salienta uma diminuição nos valores obtidos para os ângulos de contacto com o aumento do tempo de reacção, denotando um aumento

na hidrofiliidade do sistema, resultado também previsto pelos valores obtidos em caracterizações anteriormente apresentadas.

Comparando com os resultados obtidos com os dos géis descritos no capítulo 3, verifica-se que os valores apresentados neste caso são ligeiramente superiores aos obtidos para os géis obtidos através de radiação γ . Tal facto, como foi salientado, deve-se a uma maior quantidade de NIPAAm introduzida nos sistemas por irradiação γ , e consequentemente originando um aumento da hidrofiliidade total do sistema.

Com o aumento da temperatura, mais uma vez se observa o carácter termodependente dos géis obtidos, verificando-se diversas alterações aos valores do ângulo de contacto com a água obtido. Os resultados encontram-se na Tabela 4.XVI.

Tabela 4.XVI — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 37°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
1	101,7
2	105,7
3	107,2
4	110,1
5	117,7

De acordo com a Tabela 4.XVI, verifica-se que existe um aumento global de todos os valores para o ângulo de contacto com a água determinado, denotando um aumento na sua hidrofobicidade, resultado semelhante ao obtido para a capacidade de absorção de água. O carácter termodependente dos géis, devido à presença de PNIPAAm, induz um aumento na hidrofobicidade total do sistema e, consequentemente, um aumento no ângulo de contacto da água com o gel. No entanto, a variação dos valores dos ângulos de contacto é inferior à observada para os sistemas de Dextrano, uma vez que nestes últimos, a quantidade total de PNIPAAm no sistema é superior, levando a uma maior termodependência dos mesmos e, conseqüente, maior hidrofobicidade destes. Esta evidência é ainda mais salientada quando se verifica que com o aumento da concentração de NIPAAm no sistema, de acordo com o tempo de reacção da amostra, maior é a diferença obtida

entre os resultados obtidos para as temperaturas testadas. De novo, e uma vez que este método introduz menor quantidade de NIPAAm no gel comparativamente ao método da irradiação γ , verifica-se uma menor variação dos valores dos ângulos de contacto para este caso.

Para a determinação dos valores para a energia de superfície de cada gel o procedimento efectuado foi semelhante ao descrito anteriormente. Os resultados a 25°C encontram-se na tabela seguinte:

Tabela 4.XVII — Valores alcançados para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 25°C.

Sistema	Energia de Superfície (mN/m)	γ_s^p (mN/m)	γ_s^d (mN/m)
6	29,4	20,7	8,7
7	29,7	21,2	8,5
8	30,3	21,9	8,4
9	30,5	22,2	8,3
10	31,0	23,1	7,9
Pele	38-56	-	-

Como se pode observar na tabela anterior, os resultados mostram que, para todos os géis estudados, a componente polar destes é superior à componente dispersiva, resultado em consonância com a relativa hidrofiliçidade apresentada por todos os sistemas em caracterizações anteriores. De salientar que, tal como anteriormente, a componente polar obtida para os géis de base Dextrano foi ligeiramente superior à obtida para estes sistemas, directamente associada ao aumento de hidrofiliçidade do polissacarídeo e ao seu elevado peso molecular. Este resultado é também demonstrado com o aumento do valor desta com o tempo de reacção, resultado que denota um aumento global da hidrofiliçidade do sistema devido à presença de PNIPAAm no mesmo. Verifica-se, no entanto, que estes valores são ligeiramente inferiores aos encontrados para os géis indicados no capítulo 3,

denotando uma menor hidrofiliçidade destes géis, consequência da diminuição de PNIPAAm presente nos géis preparados com recurso a NCA. Mais uma vez se observa que os valores da energia de superfície são inferiores, em todos os casos, aos determinados para a pele. Este facto permite afirmar que as forças adesivas entre o gel e a pele serão superiores às forças coesivas do próprio gel. Tal facto vai permitir a adesão e o espalhamento do gel pela pele.

Para a temperatura de 37°C o estudo efectuado foi semelhante ao anterior e os resultados obtidos foram os seguintes:

Tabela 4.XVIII — Valores alcançados para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.

Sistema	Energia de Superfície (mN/m)	γ_s^P (mN/m)	γ_s^D (mN/m)
6	25,7	17,8	7,9
7	25,2	17,0	8,2
8	24,7	16,1	8,6
9	24,5	15,6	8,9
10	24,1	15,0	9,1
Pele	38-56	-	-

Como se pode observar na tabela anterior, e comparativamente com a tabela com os valores obtidos a 25°C, verificam-se grandes diferenças de valores obtidos neste caso, tal como era de prever. Mais uma vez, a componente polar dos géis apresentou valores superiores à componente dispersiva, justificado pela hidrofiliçidade apresentada pelos géis. No entanto, é de salientar a grande diminuição do valor desta componente comparativamente com o caso anterior. Tal diferença pode ser justificada pela presença de PNIPAAm que, por gelificação e agregação diminui as interacções polares entre as moléculas do gel e as do líquido. Para além disso, observa-se que os valores da componente polar para os sistemas de Quitosano a 37°C são ligeiramente superiores aos obtidos para os sistemas de Dextrano em igual condição, resultado em linha com o obtido em caracterizações anteriores. A influência de PNIPAAm também se observa mais uma vez no aumento

da componente dispersiva que, deste modo, promove uma maior coesão do gel. De salientar novamente, que, comparativamente com os géis anteriores, os apresentados neste capítulo apresentam menores variações nos resultados com a temperatura, justificado, como foi referido já, por uma menor termossensibilidade dos mesmos devido a uma menor quantidade de PNIPAAm presente no sistema final. No entanto, e mais uma vez, apesar destas alterações inerentes à transição térmica sofrida pelo gel, os valores obtidos para a energia de superfície permitem verificar que os géis irão, em contacto com a pele, ter um comportamento adesivo permitindo por isso a possível libertação do fármaco na pele.

Os resultados apresentados até agora demonstram a capacidade de síntese de um hidrogel de características termossensíveis, passível de ser aplicado em diversas situações, bastando fazer variar a sua LCST consoante a aplicação. Comparativamente, os resultados até agora apresentados mostram características semelhantes às dos géis sintetizados no capítulo 3. No entanto, verifica-se que a quantidade de NIPAAm que se consegue introduzir por este método é inferior, o que é demonstrado pelos valores inferiores obtidos para a concentração de copolímero. Este método permite, por isso, preparar hidrogéis com variações menos significativas da sua LCST, permitindo aplicações a temperaturas mais baixas do corpo humano.

4.3.7. Avaliação do padrão de libertação do fármaco

A avaliação do padrão de libertação do fármaco é de vital importância para a caracterização de um sistema de libertação controlada, uma vez que permite verificar qual a quantidade de fármaco libertada por cada sistema e a forma como essa libertação ocorre ao longo do tempo. Para o caso dos géis produzidos por reacção com NCA, o fármaco foi introduzido por oclusão, isto é, foi colocado na

mistura reaccional durante a formação do mesmo, ficando desta forma incluído na estrutura do gel. A libertação foi efectuada de forma idêntica à apresentada para o capítulo 3.

4.3.7.1. Sistemas de base Dextrano

A figura seguinte apresenta os resultados obtidos para os sistemas a 25°C de temperatura.

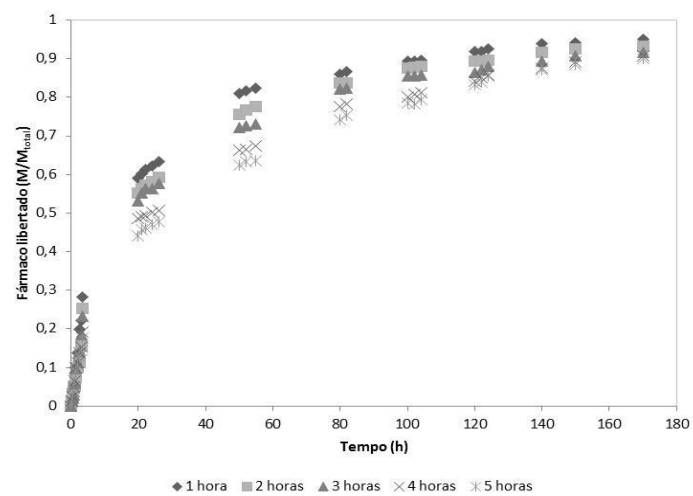


Figura 4.22 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Dextrano a 25°C.

Na figura anterior, é possível verificar que todos os sistemas sem excepção apresentam um comportamento semelhante quanto à quantidade de fármaco libertado. Observa-se que todos os copolímeros apresentam uma fase inicial de libertação acentuada de fármaco libertado, seguida de uma fase de libertação mais lenta e controlada. Como foi referido no capítulo anterior, este facto prende-se

principalmente com a diferença de concentrações de fármaco entre o interior do gel e o meio envolvente, funcionando esta como uma *driving-force* para o mecanismo de difusão, sendo por isso mais acentuada com o aumento na diferença de concentrações.

No entanto, é possível observar diferenças nos primeiros momentos de libertação, onde os sistemas com menor tempo de reacção apresentaram uma libertação um pouco mais acentuada do que os outros. Tal facto pode dever-se a um maior grau de reticulação devido ao aumento da quantidade de NIPAAm introduzida.

Semelhante justificação pode ser dada quando se comparam os resultados obtidos para os géis apresentados no capítulo 3. Verifica-se, deste modo, que ocorre uma libertação de uma maior quantidade de fármaco para o caso dos géis obtidos por reacção com NCA comparativamente aos outros. Tal facto pode, por isso, ficar a dever-se a uma maior quantidade de copolímero presente nos géis obtidos por irradiação, o que leva a um maior controlo sobre o total de fármaco libertado. Para além disso, observa-se que a quantidade de fármaco libertada ocorre ao longo de um tempo ligeiramente inferior ao que se verificou para os géis do capítulo 3. Estas variações não são, no entanto, muito significativas, sendo que todos os géis apresentaram libertações superiores ou próximas a 90% do total inicialmente introduzido no gel.

Mais uma vez um estudo semelhante foi efectuado a 37°C e os resultados obtidos apresentados na figura seguinte:

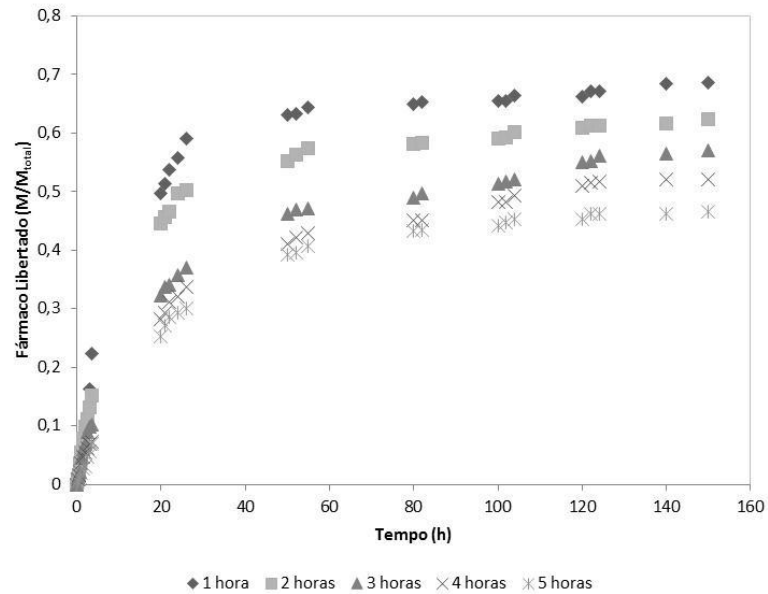


Figura 4.23 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Dextrano a 37°C.

A figura 4.23 mostra que existe um contraste bastante acentuado no padrão de libertação do fármaco, quando comparado com o mesmo à temperatura de 25°C. Esta observação reforça, novamente, o carácter termossensível dos géis sintetizados. Os resultados mostram ainda uma variação significativa com uma diminuição, por vezes acentuada, quer da velocidade de libertação quer da própria quantidade de fármaco libertado pelos sistemas. As diminuições variaram entre os 20% para o sistema 1 e os 40% para o caso do sistema 5. Verifica-se assim a ocorrência de uma libertação quase imediata de grande parte do fármaco nos momentos iniciais do ensaio, seguindo-se uma fase de quase estabilização. Este comportamento deve-se novamente a dois factos distintos: primeiramente, o gradiente de concentrações de fármaco do interior e do exterior do gel leva a que ocorra a difusão do mesmo para o meio aquoso. Para além disso, a contracção das cadeias poliméricas, nomeadamente

das de PNIPAAm, devido ao seu carácter termossensível, leva à «expulsão» das moléculas de fármaco mais próximas da superfície de forma quase instantânea, ocorrendo a retenção das restantes no interior do gel, levando à segunda fase da libertação. Deste modo, os valores obtidos para o total de fármaco libertado foram significativamente inferiores aos encontrados para os mesmos sistemas colocados a temperaturas superiores. Para além disso, verifica-se que os sistemas com maiores concentrações em PNIPAAm são os que apresentam maiores variações com a modificação da temperatura, mais uma vez salientando todo o carácter termossensível do sistema.

Comparativamente aos resultados obtidos no capítulo 3, verifica-se que a quantidade total de fármaco libertado ao longo de todo o ensaio é superior à observada para os sistemas preparados por radiação γ . Este facto pode dever-se à diferença de concentrações de PNIPAAm em cada um dos sistemas. Deste modo, e como os géis preparados por NCA apresentam concentrações inferiores no polímero termossensível, a barreira formada pelas cadeias deste, quando agregadas devido à temperatura, é menor, levando a uma maior libertação de fármaco ao longo do tempo. De igual modo, a quantidade de Ondansetron® libertada inicialmente é menor para este caso do que para os géis preparados por irradiação, podendo justificar-se este comportamento de igual modo. No entanto, globalmente, o comportamento seguido por ambos os géis, independente do método de preparação, é semelhante quando estes são colocados acima da LCST.

Seguidamente foi efectuada a determinação do valor para o coeficiente de difusão de todos os sistemas a ambas temperaturas testadas. Para tal, recorreu-se à expressão 3.16 apresentada na secção 3.3.7.1. Os resultados encontram-se na tabela seguinte:

Tabela 4.XIX – Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas de Dextrano a 25°C e a 37°C.

Tempo de Reacção	T=25°C		T=37°C	
	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação
1	0,0957	0,989	0,0541	0,991
2	0,0798	0,993	0,0402	0,989
3	0,0656	0,994	0,0236	0,993
4	0,0505	0,992	0,0103	0,987
5	0,0471	0,986	0,00815	0,994

Da observação da tabela verifica-se, tal como sucedia para os sistemas do capítulo anterior, uma redução do coeficiente de difusão com o aumento do tempo de reacção. Esta variação poderá estar relacionada com o aumento de copolimero introduzido no sistema final, permitindo deste modo um maior controlo na quantidade de fármaco libertada. Com o aumento da temperatura, observou-se uma diminuição do valor do coeficiente de difusão, denotando uma maior dificuldade do fármaco em se difundir pela matriz polimérica. Este motivo pode estar relacionado com a agregação das cadeias de NIPAAm devido ao aumento da temperatura.

De seguida foi determinado, matematicamente, qual o tipo de difusão observado em cada caso recorrendo à logaritmização dos valores e respectiva regressão linear e aplicação da fórmula 3.3, apresentada na secção 3.3.5.1 do capítulo anterior (Peppas, 1985).

A tabela seguinte resume os valores determinados para todos os sistemas a ambas as temperaturas.

Tabela 4.XX — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da libertação controlada de Ondansetron® para os sistemas de base Dextrano.

Sistema	T=25°C			T=37°C		
	n	k(h ⁿ)	R ²	n	k(h ⁿ)	R ²
1	0,525	0,0721	0,974	0,545	0,0621	0,978
2	0,537	0,0695	0,959	0,574	0,0598	0,995
3	0,542	0,0625	0,989	0,578	0,0514	0,989
4	0,547	0,0614	0,979	0,589	0,0458	0,991
5	0,542	0,0641	0,991	0,595	0,0321	0,975

Da tabela anterior podem ser retiradas diversas conclusões em relação ao tipo de difusão presente em cada situação. Globalmente podemos, mais uma vez, afirmar que este tipo de aproximação utilizado para determinação dos parâmetros característicos da difusão foi bem escolhido, uma vez que todos os sistemas apresentam valores para o coeficiente de correlação próximos da unidade. Para os sistemas colocados a 25°C observa-se que todos, sem exceção, apresentam valores para o expoente característico da difusão próximos de 0,5, podendo todos ser considerados sistemas com difusão de fármaco do tipo Fickiana (Peppas, 1985). Ou seja, a principal razão para a libertação do fármaco é a diferença de concentrações entre o exterior e o interior, levando, deste modo, à difusão do mesmo do interior para o exterior do gel. Verifica-se, para além disso, que os valores de n vão aumentando ligeiramente entre o primeiro e o último sistema. Tal aumento, e consequente aproximação aos valores Fickianos, pode ser explicada novamente devido a um aumento do grau de reticulação dos sistemas, verificado pelo aumento da concentração de NIPAAm, o que leva a um maior controlo na libertação. No entanto, globalmente todos os valores são muito próximos, pelo que podemos dizer que a difusão é predominantemente do tipo Fickiano. Este resultado é semelhante ao verificado para os géis descritos no capítulo anterior, encontrando-se de acordo com as semelhanças observadas no padrão de libertação do fármaco nos géis preparados através de um ou outro método. Relativamente ao parâmetro k , este apresenta uma diminuição com o aumento do tempo de reacção. Como foi referido este parâmetro está relacionado com a estrutura e a geometria do gel. Esta

diminuição pode sugerir que, para além de a libertação do fármaco ser mais lenta, também o polímero poderá apresentar algum tipo de interacção com o fármaco, retardando a sua libertação.

Com o aumento da temperatura observam-se alterações mais significativas nos valores obtidos, apesar de, mais uma vez, se encontrarem próximos de 0,5. Verifica-se que, para os géis com percentagens inferiores de NIPAAm, o valor de n é próximo do valor para a difusão Fickiana, ou seja, controlada não pela estrutura polimérica mas pelo gradiente de concentrações. No entanto, com o aumento da concentração, e consequente termodependência do sistema, o valor de n aumenta, tornando o processo difusional um misto entre a difusão do tipo Fickiana e do tipo não-Fickiana, controlada pela estrutura polimérica. Este resultado era em parte esperado dado que, para os casos com maior concentração em PNIPAAm, o gel sofre uma alteração significativa ao nível da sua estrutura, sendo essa alteração responsável pelo controlo na libertação do fármaco. Estas conclusões são idênticas às determinadas para os géis de preparação por irradiação γ , sendo que, no entanto, os valores de n encontrados para estes últimos géis apresentam variações mais significativas, e afastamentos superiores ao valor para a difusão Fickiana, resultado este em concordância com o aumento da concentração de PNIPAAm nos sistemas. Deste modo, podemos reforçar as conclusões já retiradas de que o aumento da concentração em NIPAAm leva a temperaturas superiores à LCST, a um maior controlo da libertação pela estrutura polimérica e não apenas devido à diferença de concentrações entre o exterior e o interior do gel.

4.3.7.2. Sistemas de base Quitosano

De forma semelhante ao efectuado para os sistemas de Dextrano, foram realizados estudos de libertação de Ondansetron® para os sistemas de Quitosano. A figura seguinte apresenta o resultado obtido para todos os sistemas a 25°C.

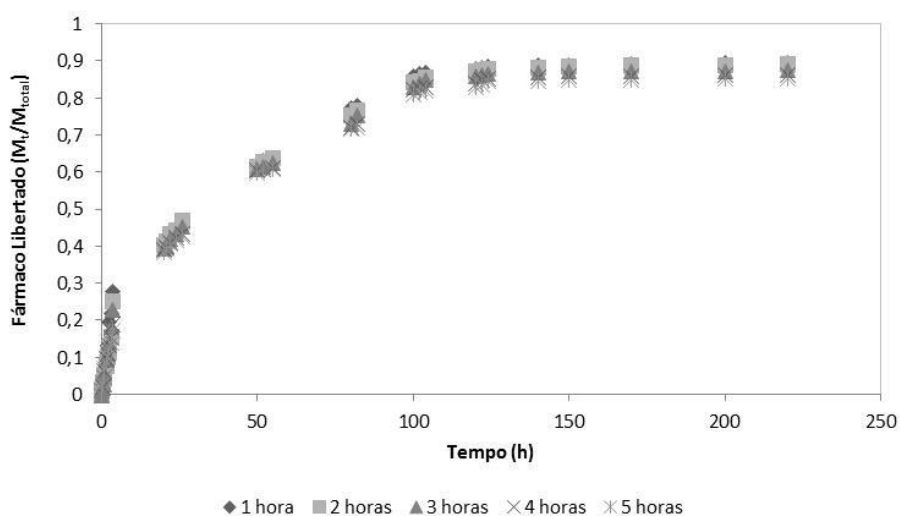


Figura 4.24 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas de base Quitosano a 25°C.

Na figura anterior pode observar-se que, tal como sucedera para o caso dos sistemas de base Dextrano, também os de base Quitosano, quando colocados a 25°C, apresentam uma libertação de Ondansetron® próxima da totalidade introduzida inicialmente. Observa-se uma fase mais rápida de libertação na parte inicial do

ensaio, novamente relacionada com os motivos anteriormente apresentados, isto é, a diferença acentuada de concentrações de fármaco entre o interior e o exterior do gel. De igual forma, verifica-se que, no final do ensaio, os valores totais libertados são próximos de 90% do total inicialmente introduzido, havendo ligeiras variações consoante a concentração final de PNIPAAm no gel. No entanto, estas diferenças são mais ligeiras do que as observadas para o Dextrano. Este facto pode ser justificado pela redução na quantidade de NIPAAm introduzida para nos sistemas de base Quitosano e, conseqüentemente, redução no grau de reticulação do gel. Esta redução pode levar a uma diminuição na variação observada entre sistemas, ao contrário do que sucedera para os sistemas de base Quitosano. No entanto, é de salientar que, quer para um quer para outro polissacarídeo, as diferenças verificadas foram mínimas, não se podendo afirmar que sejam significativas para os resultados finais.

Verifica-se que, comparativamente com os resultados apresentados no capítulo anterior, os géis preparados por este método apresentam menores valores de libertação no total do que os géis preparados por irradiação γ . No entanto, as diferenças são mínimas, não se podendo também aqui concluir que ambos os métodos produzam alterações significativas relativamente à quantidade de libertação total de fármaco final. Verifica-se, no entanto, que a libertação ocorre de forma mais lenta, uma vez que o total de fármaco libertado decorre para um tempo de 250 horas, ligeiramente superior ao observado para os géis preparados por irradiação γ .

A figura seguinte apresenta o padrão de libertação para os sistemas colocados a 37°C.

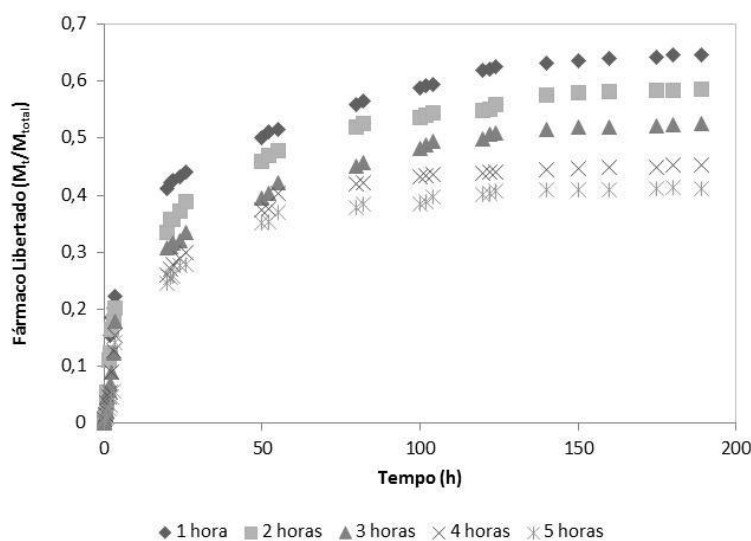


Figura 4.25 — Resultados obtidos para a liberação de fármaco para os sistemas de base Quitosano a 37°C.

Tal como o sucedido para os sistemas de base Dextrano, também os sistemas de base Quitosano apresentam variações significativas no comportamento difusional do fármaco quando colocados a uma temperatura superior à LCST determinada. Verificam-se reduções significativas na quantidade de fármaco libertado por cada sistema, sendo que as diminuições são mais acentuadas com o aumento do tempo de reacção e, conseqüentemente, com o aumento da concentração de PNIPAAm, denotando, novamente, o comportamento termossensível dos géis induzido pela presença desta última. Este resultado encontra-se em consonância com o esperado e o observado para os sistemas de Dextrano, podendo aplicar-se a mesma justificação, ou seja, o colapso da estrutura polimérica devido ao aumento da temperatura fazendo com que ocorra uma libertação mais acentuada no início, um *burst*, seguida da uma libertação muito lenta ou mesmo quase nula, ocorrendo retenção de parte do fármaco no final do ensaio no interior do gel. Comparativamente com o resultado obtido para os géis de irradiação, verifica-se uma consonância nos resultados em

ambos os sistemas, com uma diminuição acentuada nos dois casos. No entanto, é possível verificar que, para o caso destes géis, a diminuição não foi tão acentuada como a verificada para o primeiro caso. Este resultado pode, mais uma vez, ser justificado pela menor concentração de PNIPAAm que foi introduzida para os géis preparados com NCA, o que levou a uma diminuição no carácter termossensível dos mesmos, permitindo, deste modo, uma libertação superior de fármaco. No entanto, as diferenças observadas não são demasiado significativas, pelo que podemos retirar as mesmas conclusões em relação ao comportamento de ambos os géis.

Estes resultados foram observados por outros autores utilizando fármacos distintos, como Chuang, onde a libertação de Doxiciclina (um antibiótico) apresentou padrões semelhantes aos obtidos neste trabalho (Chuang *et al*, 2009).

De forma semelhante aos sistemas de Dextrano também nestes foram determinados os coeficientes de difusão de cada um, de acordo com a temperatura a que o ensaio decorreu. Os resultados são apresentados na tabela seguinte:

Tabela 4.XXI – Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas de Quitosano a 25°C e a 37°C.

Tempo de Reacção	T=25°C		T=37°C	
	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação
1	0,0754	0,993	0,0593	0,991
2	0,0678	0,995	0,0421	0,987
3	0,0595	0,989	0,0215	0,989
4	0,0441	0,991	0,0132	0,982
5	0,0378	0,991	0,0092	0,984

Da tabela anterior, e de forma idêntica ao sucedido para o Dextrano, observa-se uma diminuição do valor para o coeficiente de difusão dos sistemas com o aumento do tempo de reacção e, conseqüente aumento de NIPAAm introduzido no

sistema final. Comparativamente ao Dextrano observa-se que os valores obtidos não são muito distintos, sendo no entanto inferiores, denotando uma menor libertação do fármaco e uma maior dificuldade deste em se difundir pela matriz polimérica. Com o aumento da temperatura, observa-se uma diminuição acentuada do coeficiente, denotando uma libertação mais lenta do fármaco pelo gel, resultante, provavelmente do colapso das cadeias de PNIPAAm. Este facto é mais salientado quando se verifica que a diminuição ocorre com o aumento do tempo de reacção e da concentração final de PNIPAAm no gel.

De seguida, foi efectuado o estudo matemático para a determinação dos parâmetros característicos da libertação tal como para os sistemas de Dextrano.

A tabela seguinte resume os resultados obtidos para ambas as temperaturas.

Tabela 4.XXII — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da libertação controlada de Ondansetron® para os sistemas de base Quitosano.

Sistema	T=25°C			T=37°C		
	n	k(h ⁿ)	R ²	n	k(h ⁿ)	R ²
6	0,502	0,0784	0,988	0,507	0,0542	0,974
7	0,507	0,0771	0,989	0,515	0,0514	0,959
8	0,509	0,0739	0,984	0,548	0,0485	0,985
9	0,512	0,0665	0,974	0,559	0,0375	0,949
10	0,518	0,0614	0,989	0,578	0,0289	0,979

A partir dos resultados indicados na tabela anterior, é possível concluir que, tal como referido anteriormente, o método escolhido para a determinação dos parâmetros cinéticos foi o correcto, uma vez que para todos os sistemas se obtiveram valores elevados para o coeficiente de correlação. No caso dos sistemas estudados a 25°C observa-se que os valores do expoente característico se encontram próximos de 0,5, ou seja, todas as libertações são do tipo Fickiana, sendo deste modo, controladas pelos gradientes de concentrações que existem entre o interior e o exterior do gel. Estes resultados são semelhantes aos determinados na secção

anterior para os sistemas de base Dextrano, e também observados graficamente pelo padrão de libertação do Ondansetron®. No entanto, quando ocorre o aumento da temperatura para 37°C verifica-se, tal como para o Dextrano, um aumento do valor de n , sendo que, no entanto, para o caso do Quitosano, este aumento é inferior e, conseqüentemente, a difusão do fármaco não se encontra tão dependente da estrutura polimérica como para o caso do Dextrano. Este facto pode ser explicado pela menor quantidade de NIPAAm introduzida no caso do Quitosano, nas mesmas condições. Deste modo, o efeito barreira que se verifica no caso do Dextrano é menor para esta situação, permitindo uma libertação um pouco maior em quantidade do fármaco. Estes resultados são também corroborados pelos valores obtidos de k que, ao diminuir com o tempo de reacção demonstra uma maior interacção entre polímero e o fármaco, dificultando a sua difusão.

Estas conclusões são semelhantes às verificadas no capítulo anterior, sendo que, no entanto, no caso destes géis, como se verificou anteriormente no padrão de libertação, os valores de n , nomeadamente para temperaturas superiores a LCST, são inferiores aproximando-se mais de 0,5 e de uma libertação mais do tipo Fickiana, e menos dependente da estrutura e degradação das cadeias poliméricas. Este resultado, mais uma vez, se justifica pela menor quantidade de NIPAAm colocada em cada gel por este método, reduzindo a termodependência dos mesmos. Podemos, no entanto, dizer que, para ambos os casos, temos uma libertação de forma controlada do fármaco, podendo, deste modo, conseguir-se libertar as quantidades necessárias, de acordo com a aplicação a dar ao gel aqui preparado.

4.4. Conclusões

A partir dos resultados apresentados em todo o capítulo podem ser retiradas diversas conclusões. Primeiramente, podemos dizer que o método escolhido, a polimerização radicalar de ambos os polissacarídeos com recurso a NCA, foi um sucesso por ter permitido a introdução de NIPAAm no sistema, transformando cada polissacarídeo num gel com propriedades termossensíveis. A termossensibilidade de cada um provou-se estar intimamente relacionada com o tempo de reacção, uma vez que, quanto maior o tempo de reacção, maior a quantidade de NIPAAm que se introduziu e, conseqüentemente, maior a termossensibilidade do mesmo. Esta conclusão foi comprovada pelos resultados obtidos pela análise elementar e por FTIR-ATR e ¹H-RMN. No entanto, verificou-se, comparativamente ao método anteriormente apresentado, que a introdução de NIPAAm para este caso é inferior à observada para os géis preparados por irradiação γ , levando à obtenção de géis com menores características termossensíveis. Mais uma vez a dificuldade de determinação por FTIR e RMN da formação de copolímero ou mistura de homopolímeros manteve-se sendo que, para este caso a dúvida desapareceu dado o próprio mecanismo de reacção envolvendo o NCA, que apenas origina radicais nos polissacarídeos.

Também foi possível concluir que existe a possibilidade de alterar a temperatura de solução crítica inferior da PNIPAAm com a variação do tempo de reacção, levando a que, para tempos de reacção superiores, com conseqüente aumento de concentração em PNIPAAm, ocorreu uma variação da LCST para temperaturas superiores às determinadas para o composto puro. Mais uma vez podemos concluir que, variando a percentagem de PNIPAAm no hidrogel, é possível obter um gel com características distintas de acordo com a aplicação a ser dada ao gel. De acordo com o referido anteriormente, observa-se, neste caso, que a variação da LCST para este caso foi inferior à obtida para os géis apresentados no capítulo anterior, conseqüência da menor concentração de PNIPAAm em cada gel.

A capacidade de absorção de água mostrou uma clara dependência da temperatura à qual eram realizados os ensaios, tendo-se observado que todos os hidrogéis são do tipo superabsorvente a temperaturas inferiores à LCST, com valores de absorção de água superiores a 100%, enquanto que, para os sistemas a temperaturas superiores a LCST, tínhamos apenas hidrogéis, ou seja, com absorções inferiores às registadas. Para além disso, verificou-se uma variação nesta propriedade de acordo com o material-base utilizado para cada sistema, com os sistemas de base Quitosano a apresentarem, na globalidade, valores inferiores dada a maior hidrofobicidade deste material e menor peso molecular do mesmo.

Verificou-se também que, para estes géis, os resultados, a 25°C, foram inferiores aos obtidos para os géis apresentados no capítulo anterior, uma vez que a quantidade de NIPAAm introduzida era inferior e já que a esta temperatura, o copolímero se comporta como um material hidrofílico.

Os ângulos de contacto permitiram determinar os valores para as tensões superficiais dos géis e compará-las com os valores conhecidos para a pele. Mais uma vez se observou que todos os sistemas apresentaram um comportamento adesivo à pele, com valores de tensão superficial inferior à determinada para a pele. Observou-se também que, com o aumento da temperatura, ocorria uma variação dos valores das componentes polar e dispersiva de cada composto, directamente relacionada com o aumento da hidrofobicidade do sistema devido a PNIPAAm, sendo que, no entanto, não se observavam diferenças significativas nos valores de tensão superficial de cada gel.

Finalmente, os ensaios de libertação de Ondansetron® revelaram uma libertação do tipo Fickiano para os géis colocados a temperaturas inferiores a LCST, independente do tipo de polissacarídeo-base do sistema. No entanto, com o aumento da temperatura, observou-se uma diminuição na quantidade de fármaco libertado traduzido numa redução do coeficiente de difusão determinado e no tipo de libertação, verificando-se que alguns sistemas já apresentavam libertações do tipo não-Fickiano, ou seja, dependente não só do gradiente de concentrações do meio, mas também da estrutura polimérica do mesmo. No entanto, esta dependência

mostrou-se inferior comparativamente à observada para os géis referenciados no capítulo 3 uma vez que há uma diminuição na quantidade de NIPAAm introduzida.

Globalmente é de salientar que, tal como se observou no caso anterior, os resultados obtidos se mostram promissores para a sua aplicação como biomaterial e sistema de libertação controlada de fármacos, nomeadamente, na modelação do sistema de acordo com as necessidades e aplicações a dar ao mesmo.

Bibliografia

Alvarez-Lourenzo, C., Concheiro, A., "Reversible adsorption by a pH- and Temperature –sensitive acrylic hydrogel", *Journal of Controlled Release*, 2002, 80, 247-257.

Alves, N.M., Mano, J.F., "Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications", *International Journal of Biological Macromolecules*, 2008, 43, 401-414.

Arthur, J. C., *et al*, "ESR Study of reactions of cellulose initiated by ceric ion method", *Journal of Applied Polymer Science*, 1996, 10, 1591.

Cai, Hong, *et al*, "Synthesis and characterization of thermo- and pH- sensitive hydrogels based on Chitosan-grafted N-Isopropylacrylamide via γ -radiation", *Radiation Physics and Chemistry*, 2005, 74, 26-30.

Chaung, C.-Y., *et al*, "Preparation of environmental-responsive chitosan-based nanoparticles by self-assembly method", *Carbohydrate Polymers*, 2010, doi:10.1016/j.carbpol.2010.01.053

Ciardelli, Gianluca, *et al*, "Blends of Poly-(ϵ -caprolactone) and Polysaccharides in Tissue Engineering Applications", *Biomacromolecules*, 2005, 6, 1961-1976.

Dimitriu, Severian, "Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility", *CRC Press*, 2ª Edição, New York, 2005.

Espenson, James H., "Chemical Kinetics and Reaction Mechanisms", *Mc-Graw-Hill*, Second Edition, New York, 1995.

Hwu, Jih Ru, King, Ke- Yung, "Versatile reagent ceric ammonium nitrate in modern chemical synthesis", *Current Science*, 2001, 81, 1043-1053.

Jana S. C., *et al*, "Graft copolymerization of acrylonitrile onto poly(vinyl Alcohol) in presence of air using ceric ammonium nitrate-natural gums", *Journal of Applied Polymer Science*, 2000, 78, 1586-1590.

Joshi, Jigar M., Sinha, Vijay K., "Ceric ammonium nitrate induced grafting of polyacrylamide onto carboxymethyl chitosan", *Carbohydrate Polymers*, 2007, 67(3), 427-435.

Katsumoto, Yukiteru, *et al*, "Conformational Change of Poly(N-Isopropylacrylamide during the Coil-Globule Transition Investigated by Attenuated Total Reflection/Infrared Spectroscopy and Density Functional Theory Calculation", *Journal of Physical Chemistry A*, 2002, 106, 3429-3435.

Lee, J.E., *et al*, "Synthesis and characterization of thermosensitive chitosan copolymer as a novel biomaterial", *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*, 2004, 15(8), 1065-1079.

Lee, S.B., *et al*, "Temperature/pH-Sensitive Comb-Type Graft Hydrogels composed of Chitosan and Poly(N-Isopropylacrylamide)", *Journal of Applied Polymer Science*, 2004, 92, 2612-2620.

Lu, Diannan, *et al*, "Dextran-grafted-PNIPAAm as an artificial chaperone for protein refolding", *Biochemical Engineering Journal*, 2006, 27, 336-343.

Mellor, J. M., *et al*, "Improved Nitrations Using Metal Nitrate-Sulfuric Acid Systems", *Tetrahedron*, 2000, 56, 8019-8024.

Peppas, N.A., "Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers", *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 1985, 60, 110-111.

Pourjavadi, Ali, Zohuriaan-Mehr, Mohammad J., "Modification of Carbohydrate Polymers via grafting in Air. 2. Ceric-initiated graft copolymerization of Acrylonitrile onto Natural and Modified polysaccharides", *Starch*, 2002, 54(10), 482-488.

Pourjavadi, A., *et al*, "Modified chitosan. I. optimized cerium ammonium nitrate-induced synthesis of chitosan-graft-polyacrylonitrile", *Journal of Applied Polymer Science*, 2003, 88(8), 2048-2054.

Smith G. Frederick, *et al*, " Hexanitrate ammonium cerate as a proposed reference standard in oxidimetry", *Industrial & Engineering Chemistry Analysis Edition*, 1936, 8(6), 449-451.

Van de Velde, Kathleen, Kiekens, Paul, " Structure analysis and degree of substitution of chitin, chitosan and dibutylchitin by FT-IR spectroscopy and solid state ^{13}C NMR", *Carbohydrate Polymers*, 2004, 58, 409-416.

Venkatraman, S., Gale, R., "Skin adhesives and skin adhesion", *Biomaterials*, 1998, 19(13), 1119-1136.

Zhang, Li-Ming, Chen- Li-Qiong, "Water-soluble grafted polysaccharides containing sulfobetaine groups: Synthesis and characterization of graft copolymers of hydroxyethyl cellulose with 3-dimethyl(methacryloyloxyethyl) ammonium propane sulfonate", *Journal of Applied Polymer Science*, 2002, 83(13), 2755-2761.

Zhang, X., *et al*, "Synthesis and characterization of partially biodegradable, temperature and pH sensitive Dex-MA/PNIPAAm hydrogels", *Biomaterials*, 2004, 25, 4719-4730.

Hidrogéis Preparados por Fotoiniciação

5. Hidrogéis Preparados por Fotoiniciação	225
5.1. INTRODUÇÃO	225
5.2. PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS	228
5.2.1. Materiais	228
5.2.1. Síntese	228
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	230
5.3.1. Análise Elementar	231
5.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	234
5.3.3. Determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)	240
5.3.4. Determinação da capacidade de absorção e libertação de água	243
5.3.5. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície	252
5.3.6. Avaliação do padrão de libertação do fármaco	257

5.4. CONCLUSÕES	263
BIBLIOGRAFIA	266

5. Hidrogéis preparados por Fotoiniciação

Neste capítulo serão apresentados toda a teoria, experimentação, resultados, conclusões e bibliografia referentes às reacções cuja iniciação foi efectuada recorrendo a um fotoiniciador.

5.1. Introdução

Presentemente, a radiação com luz na região do ultravioleta (UV) é utilizada em diversas áreas, tais como a da esterilização (a par da radiação γ anteriormente apresentada) e desinfecção de águas contaminadas, devido ao seu poder bactericida. Outra grande área de aplicação é a área das tintas, vernizes e outros tipos de revestimentos, onde este tipo de radiação apresenta grande utilização principalmente na cura dos mesmos (Napadensky, 2005; Huang, 2003). Outra área de aplicação deste tipo de radiação é a área dos biomateriais, nomeadamente na modificação dos materiais poliméricos, permitindo preparar sistemas para imobilização de células, ou mesmo sistemas de libertação controlada (Cruise *et al*, 1999; Li *et al*, 2006; Nguyen & West, 2002).

Dentro da Biomedicina, uma das áreas que tem desde sempre suscitado grande interesse por parte da comunidade científica é a área relativa a materiais fotopolimerizáveis. Esta importância tem sido acrescida nos últimos tempos dado o interesse, por parte da comunidade médica, em obter materiais que permitam a sua polimerização *in situ*. Esta constitui, aliás, uma das grandes vantagens deste tipo de material face aos apresentados anteriormente. É, pois, possível colocar a mistura reaccional no local desejado e, fazendo incidir uma luz UV, originar rapidamente o material pretendido. A velocidade de reacção apresentada é, pois, bastante elevada à temperatura ambiente. A variação do tempo de irradiação permite também obter

materiais com diversas texturas e elasticidades a partir da mesma mistura, permitindo adaptar cada biomaterial à situação onde será aplicado. Este tipo de polímeros tem sido utilizado recentemente, entre outras aplicações, no desenvolvimento de matrizes para implantes ósseos constituídos por polímeros biodegradáveis, que permitem o crescimento das células no interior, degradando-se posteriormente (Kraus & Kirker-Head, 2006). Para além deste tipo de aplicações, os materiais fotopolimerizáveis também têm sido muito utilizado em medicina, na área da engenharia de tecidos, no cultivo de células estaminais para posteriormente serem diferenciadas consoante o local de aplicação das mesmas (Benson, 2002).

Para que um monómero possa ser fotopolimerizável tem de apresentar na sua estrutura grupos funcionais que possam ser induzidos a reagir perante uma fonte de luz, permitindo a sua reticulação ou apenas fotopolimerização (Corrales *et al*, 2003). No entanto, e como em quase todos os tipos de polimerização, para que tal aconteça, é necessária a presença de iniciadores, que neste caso se designam por fotoiniciadores. Estas moléculas têm a particularidade de, sob a acção da luz, criar radicais na sua estrutura que, posteriormente, iniciam reacções de polimerização noutras moléculas, permitindo a reticulação das mesmas (Decker, 2002).

Globalmente, os fotoiniciadores podem ser divididos em duas categorias distintas, normalmente designadas por iniciadores do Tipo I e do Tipo II, respectivamente (Allen *et al*, 1999). Os primeiros são iniciadores que, quando expostos a uma radiação UV, sofrem um processo global de fragmentação, ocorrendo então a formação de radicais capazes de servir como iniciadores numa polimerização. Alguns exemplos deste tipo de fotoiniciadores são os derivados das acetofenonas.

No caso dos fotoiniciadores do Tipo II, a formação de radicais requer a presença de moléculas no meio que sofram elas um processo de remoção de um átomo de Hidrogénio, ocorrendo a conseqüente formação de radicais e a polimerização. Exemplos deste tipo de fotoiniciadores são as aminas terciárias ou as benzofenonas.

O Irgacure® 2959, cuja estrutura se apresenta na figura 5.1, foi sintetizado pela empresa *Ciba* e pode ser incluído no grupo das α -hidroxialquilfenonas (Tipo I), sendo altamente reactivo, mas, ao mesmo tempo, apresentando uma elevada estabilidade térmica.

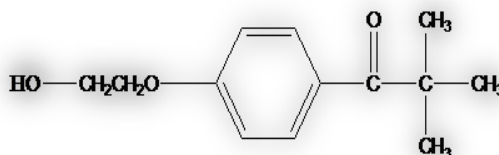


Figura 5.1 — Estrutura química do Irgacure® 2959.

A sua reacção típica com a radiação UV inicia-se com a quebra da ligação entre o grupo carbonilo e o carbono α . Esta dá origem a radicais de dois tipos distintos, benzoílo e alquílo, ambos passíveis de serem utilizados como iniciadores para a polimerização radicalar.

Um dos problemas no uso de fotoiniciadores é a sua biocompatibilidade e consequente toxicidade para o corpo humano. Neste sentido, foram efectuados diversos estudos para avaliar a toxicidade de variados fotoiniciadores, onde se incluía o Irgacure® 2959 (Williams *et al*, 2005; Ferreira *et al*, 2008). Os resultados mostram que existe grande variação na tolerância das células aos diferentes tipos de fotoiniciadores, mas globalmente verificou-se que o Irgacure® 2959 apresenta melhores resultados, sendo bem tolerado pelas linhas celulares, daí ser ideal a sua utilização na preparação de biomateriais.

5.2. Preparação dos hidrogéis

5.2.1. Materiais

Para além dos materiais previamente apresentados no capítulo 2, outros foram utilizados especificamente nesta secção do trabalho, sendo agora apresentados.

Aqui, para além do Dextrano, foram utilizados o Metacrilato de 2-Isocianoetilo (IEMA) e o Dimetilsulfóxido (DMSO), ambos adquiridos à Sigma-Aldrich (Espanha). Para a torre de secagem foi utilizado cloreto de cálcio, com pureza de 97%, obtido da Riedel-de-Haën.

O fotoiniciador, genericamente designado por Irgacure® 2959, com nome químico 2-Hidroxi-1-[4-(2-Hidroxietoxi)Fenil]-2-Metil-1-Propanona, apresentava uma pureza de 97,0/99,5% e foi gentilmente fornecido pela companhia CIBA (Ciba Specialty Chemicals, Basel, Suíça), tendo sido utilizado como obtido.

5.2.2. Síntese

A preparação do hidrogel foi efectuada através de dois passos distintos: primeiro foi necessário efectuar a modificação da estrutura do polissacarídeo de forma a introduzir ligações duplas, sendo estas ligações duplas colocadas nos grupos hidroxilo. Para tal, foi determinado, através de cálculos, o número total de grupos –OH presentes e, posteriormente, decidida a quantidade de isocianato a introduzir na mistura reaccional de forma a termos diferentes graus de substituição na molécula, nomeadamente, 25% e 33%. Dado que a reacção envolveria o uso de um Isocianato,

foi necessário efectuar a alteração do solvente, tendo sido utilizado o DMSO substituindo a água destilada.

Foi então deixado a solubilizar 1g de Dextrano em 25 ml de DMSO, durante 24 horas, num balão de fundo redondo, contendo três tubuladuras. Duas das tubuladuras encontravam-se fechadas por rolhas de vidro, sendo que a terceira, a tubuladura central, encontrava-se com uma torre de secagem contendo cloreto de cálcio por forma a evitar a entrada de humidade para a mistura reaccional. Após a solubilização, a quantidade necessária de isocianato foi adicionada à mistura, ao mesmo tempo que se colocava o interior do balão sob atmosfera de azoto, libertando o interior de qualquer humidade ainda existente para evitar a reacção de moléculas de água com o isocianato. A reacção decorreu durante 24 horas sob agitação magnética contínua, sendo o balão colocado dentro de um banho termoestático a 60°C.

Para o segundo passo da síntese, foi adicionada à mistura previamente obtida uma quantidade de fotoiniciador correspondente a 4% do total de isocianato introduzido no primeiro passo da modificação. Após a adição do fotoiniciador, o balão foi coberto com papel de alumínio de forma a evitar o contacto da solução com a luz, e deixou-se solubilizar à temperatura de 40°C durante 24 horas. Após este tempo, a reacção foi retirada do banho, tendo-se obtido líquidos transparentes e de baixa viscosidade. Finalmente, foi adicionada à mistura reaccional 1g de NIPAAm e deixado agitar para total solubilização da mesma. Após a solubilização, foi efectuada a fotopolimerização, tendo sido utilizada para este fim uma lâmpada emissora de raios UV, modelo UVGL-48, Multiband UV, da Mineral Light® Lamp, cuja gama de comprimentos de onda emitidos se encontra compreendida entre os 254 e os 365 nm. A irradiação decorreu durante 5 minutos, permitindo obter géis sob a forma de filmes.

5.3. Resultados e Discussão

O esquema das reacções ocorridas até à formação dos géis finais é apresentado na figura seguinte:

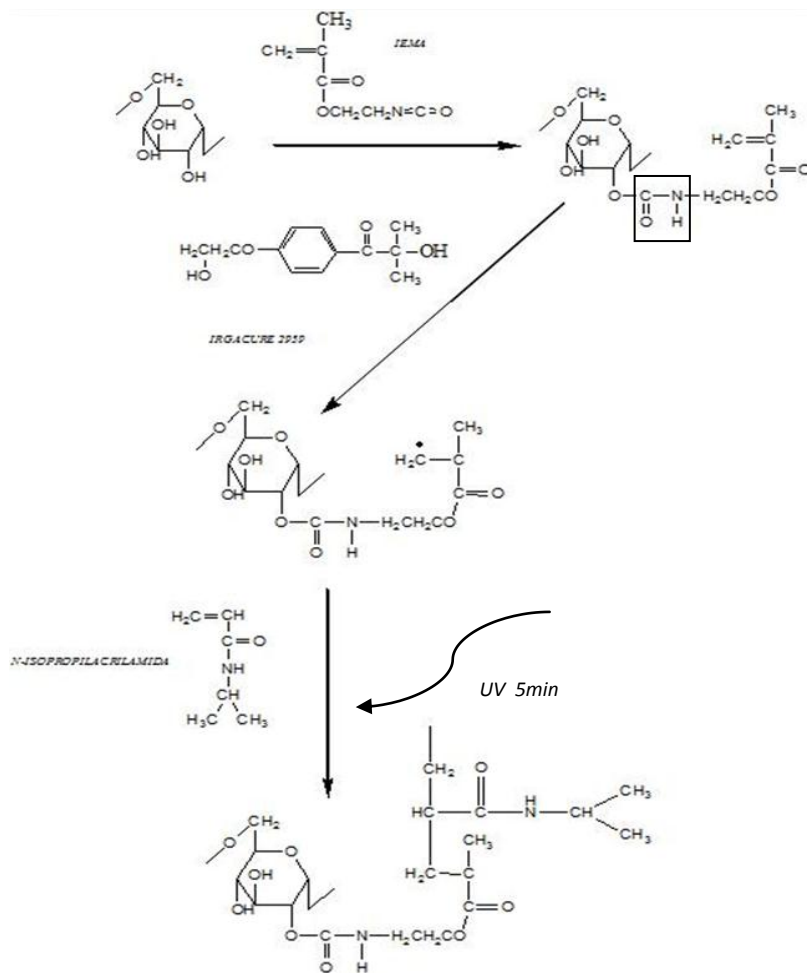


Figura 5.2 — Esquema reaccional da modificação e posterior reacção do Dextrano com N-Isopropilacrilamida.

A imagem anterior mostra genericamente a reacção entre NIPAAm e Dextrano. Como foi dito anteriormente, a reacção decorreu em dois passos, constituindo o primeiro a modificação do Dextrano com a introdução de ligações duplas e o segundo a reacção de fotopolimerização. Estas foram incorporadas no polímero através de reacção dos grupos hidroxilo do Dextrano com os grupos NCO do Isocianato, resultando na formação de ligação uretano. Numa segunda fase, a adição de NIPAAm e de Irgacure® permitiu a fotopolimerização e reticulação da mistura por reacção entre as ligações duplas anteriormente introduzidas no Dextrano e as de NIPAAm.

5.3.1. Análise elementar

Novamente os ensaios de análise elementar foram efectuados com o intuito de observar a variação da percentagem de azoto ao longo dos diversos passos reaccionais. Nesta secção serão apresentados os resultados obtidos através desta técnica de caracterização para os diferentes géis sintetizados.

Com o primeiro passo da reacção, ocorreu a introdução de grupos com azoto (uretano). Deste modo, foi efectuada uma primeira análise para tentar quantificar essa mesma introdução. Os resultados obtidos para os diferentes graus de substituição encontram-se na tabela 5.I.

Tabela 5.I — Percentagem de azoto obtida por análise elementar após a reacção de modificação de Dextrano.

	%N
Dextrano puro	0,000
25% de substituição	2,365
33% de substituição	3,659

Na tabela 5.I é possível observar que ocorre um aumento da percentagem de azoto na amostra quando comparado com Dextrano. Deste modo, podemos dizer que a reacção de modificação foi bem sucedida. Para além disso, e tal como esperado, ocorreu um aumento do valor de azoto eficazmente ligado (confirmado posteriormente pelo FTIR) ao Dextrano com o aumento do grau de substituição. Deste modo, observou-se um aumento superior a 1% no total de azoto introduzido pela modificação, acompanhada pela conseqüente descida nos outros componentes, nomeadamente, hidrogénio.

Após a segunda reacção, e da introdução de NIPAAm no sistema, uma nova análise foi efectuada, tendo-se determinado os valores para a percentagem de azoto que são apresentados na Tabela 5.II.

Tabela 5.II — Percentagem de azoto obtida por análise elementar após a reacção de fotopolimerização de Dextrano.

	%N
Dextrano puro	0,000
25% de substituição	6,874
33% de substituição	8,589

Da observação da tabela anterior, é de realçar um aumento no valor de azoto presente em cada amostra, aumento esse esperado pela introdução de PNIPAAm nos géis. Os valores apresentados na tabela são valores tendo como base os já encontrados para o primeiro passo da reacção e previamente apresentados na Tabela 5.I. O resultado apresentado é da diferença entre os valores determinados após a fotopolimerização e os valores após a modificação do Dextrano.

Comparativamente aos resultados obtidos, verifica-se que, com um maior grau de substituição, obtém-se uma maior percentagem total de azoto na amostra e, conseqüentemente, um aumento do total de PNIPAAm introduzido. Este resultado encontra-se em linha com o previsto antes da reacção dado que, com o aumento do grau de substituição do polissacarídeo, aumentava o número de ligações duplas disponíveis para a reacção de polimerização. De salientar que para além deste tipo de reacção aqui descrita, existem trabalhos já publicados de modificações de Dextranos e posterior reacção com NIPAAm para obtenção de sistemas com Temperaturas de Solução Crítica Inferior. A modificação mais frequente resulta da reacção de Dextrano com Ácido Maleico (Tomme & Hennink, 2007).

Relativamente aos métodos reaccionais testados e apresentados nos capítulos 3 e 4, observa-se que os resultados da análise elementar referentes ao azoto são superiores aos observados para os géis de preparação com NCA, mas inferiores aos determinados para os géis preparados por radiação γ , revelando que este método de preparação, apesar de quase instantâneo na síntese final dos géis, apresenta resultados intermédios relativamente aos outros dois métodos. Este resultado poderia ser ultrapassado se fosse efectuado um grau de substituição superior aos dois testados. No entanto, as características físicas do gel obtido, nomeadamente a sua rigidez, levaram a que não fosse testada essa hipótese.

Aos resultados obtidos foi efectuado um estudo mais aprofundado de modo a obter valores concretos para a percentagem de copolímero introduzido em cada gel, recorrendo-se novamente à expressão 3.1, apresentada no capítulo 3.

Tabela 5.III — Variação da percentagem de copolímero com o tempo de reacção.

Grau de Substituição (%)	Percentagem de copolímero (%)
25	49
33	60

Como se pode verificar na tabela anterior, e tal como seria esperado, observa-se um aumento da percentagem total de copolímero final nos géis com o aumento do grau de substituição em cada gel. Esta situação era previsível uma vez que, ocorrendo a reacção nas ligações duplas introduzidas, era de prever que, com o aumento destas no Dextrano, o valor total de PNIPAAm aumentasse.

Relativamente aos resultados obtidos nos capítulos anteriores, apesar de não poderem ser directamente comparáveis, por serem métodos diferentes onde a variável deixa de ser «tempo de reacção» para a ser «grau de substituição», podemos verificar que, para este caso, a percentagem de copolímero se aproxima dos resultados obtidos para o caso dos géis preparados por irradiação γ , podendo sugerir que este método é bastante eficaz na introdução de NIPAAm, tal como sucedia no caso do géis apresentados no capítulo 3.

5.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)

A técnica da espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier, FTIR, foi utilizada neste trabalho para permitir a verificação da introdução, em primeiro lugar, das ligações duplas na molécula de Dextrano e, conseqüentemente, o sucesso da primeira fase da reacção e posteriormente de PNIPAAm no gel,

observando-se, ao mesmo tempo, a variação da concentração deste com o grau de substituição dos grupos hidroxilo.

A figura seguinte mostra o espectro de FTIR de IEMA utilizado nos ensaios.

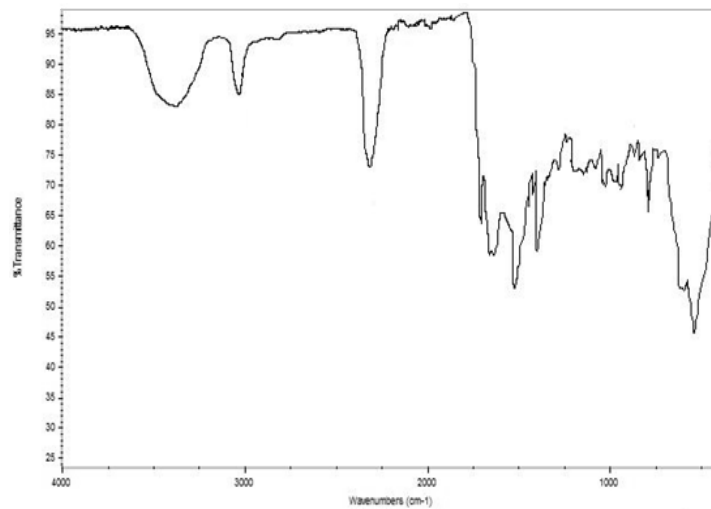


Figura 5.3 — Espectro de FTIR do IEMA.

A análise da figura anterior, nomeadamente dos diversos picos apresentados, permite efectuar uma caracterização de todos os grupos constituintes do isocianato. A banda apresentada a $\sim 3300\text{cm}^{-1}$ pode ser atribuída aos grupos N-H ligados por pontes de hidrogénio e à sua respectiva elongação. As bandas observadas a 3020 cm^{-1} , 1640 cm^{-1} e 810 cm^{-1} podem ser atribuídas à ligação vinilica C=C presente. O pico observado a $\sim 2262\text{ cm}^{-1}$ é a banda característica dos grupos isocianato N=C=O. Finalmente a banda existente a 1710 cm^{-1} pode ser atribuída à ligação C=O correspondente ao grupo éster presente no composto.

A figura seguinte apresenta o espectro de infravermelho para o Dextrano modificado após a introdução do Isocianato.

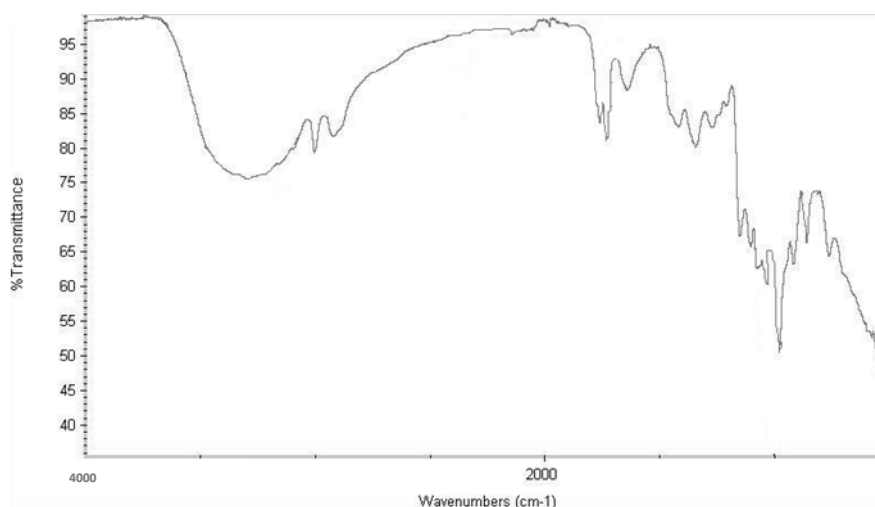


Figura 5.4 — Espectro de FTIR de Dextrano com IEMA com grau de substituição de 25%.

Efectuando uma análise semelhante a este espectro é possível verificar a existência de diferentes grupos e ligações. Verifica-se, como já referido anteriormente na caracterização do Dextrano, a existência de uma banda a 3300 cm^{-1} referente aos grupos -OH do polissacarídeo (Ciardelli *et al*, 2006). No entanto, comparativamente ao espectro de Dextrano, verifica-se que esta banda apresenta valores de transmitância inferiores, devido à substituição efectuada com a introdução dos grupos isocianato. Esta introdução está patente no aparecimento dos picos característicos do IEMA, por exemplo a 3020 cm^{-1} , pico característico, como já referido, da ligação dupla $\text{C}=\text{C}$. Prova-se assim o sucesso desta reacção na introdução de ligações duplas no Dextrano necessárias à fotopolimerização do mesmo. Verifica-se o desaparecimento do pico a 2200 cm^{-1} referente ao grupo isocianato e o aparecimento de um novo pico a 1710 cm^{-1} , referente quer à elongação da ligação $\text{C}=\text{O}$ do grupo uretano agora formado quer também do grupo éster igualmente presente no IEMA.

A figura seguinte apresenta o espectro obtido para o Dextrano modificado com um grau de substituição de 33%.

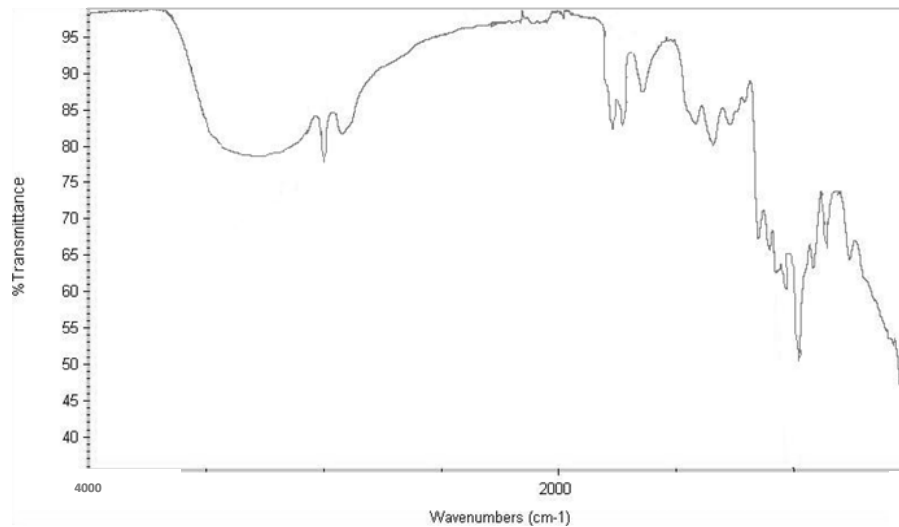


Figura 5.5 — Espectro de FTIR de Dextrano com IEMA com grau de substituição de 33%.

Comparativamente ao espectro anterior, observam-se algumas alterações referentes ao aumento do grau de substituição dos grupos -OH no Dextrano. Desta forma, verifica-se uma diminuição nos valores de transmitância referentes ao grupo Hidroxilo em resultado da diminuição do número destes na molécula. Ao mesmo tempo, observa-se um aumento na intensidade dos picos característicos do IEMA, quer para os picos referentes à ligação dupla, como o presente a 3010 cm^{-1} , quer os da própria ligação uretano, a 1710 cm^{-1} , por exemplo. Deste modo, pode concluir-se que ocorre um aumento no total de IEMA introduzido com o aumento do grau de substituição e consequente aumento do número de ligações duplas disponíveis para a reacção de fotopolimerização.

A figura seguinte apresenta o espectro de FTIR referente ao sistema com um grau de substituição de 25% após a reacção de fotopolimerização com NIPAAm.

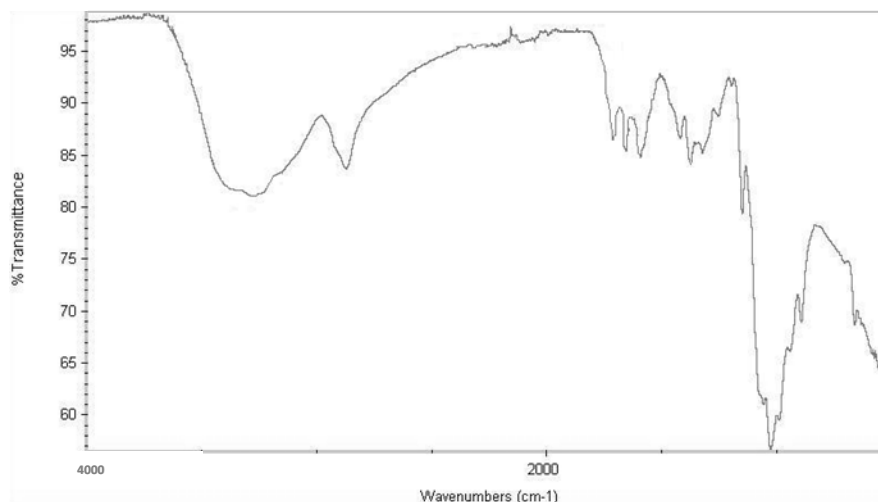


Figura 5.6 — Espectro de FTIR de Dextrano com grau de substituição de 25% modificado com PNIPAAm.

Da figura anterior é possível observar algumas alterações ao espectro comparativamente ao do Dextrano modificado. Assim, é possível verificar um aumento na intensidade dos picos a 1650 e 1550 cm⁻¹. Este aumento está relacionado, como anteriormente descrito com a introdução de PNIPAAm, no gel (Katsumoto *et al*, 2002). Para além disso, observa-se o desaparecimento dos picos referentes á ligação vinílica, como o pico a 3010 cm⁻¹, demonstrando assim o sucesso da reacção de fotopolimerização e a introdução de PNIPAAm na estrutura do gel.

Foi também efectuado o espectro do FTIR para o gel com maior grau de substituição, espectro apresentado na Figura 5.7

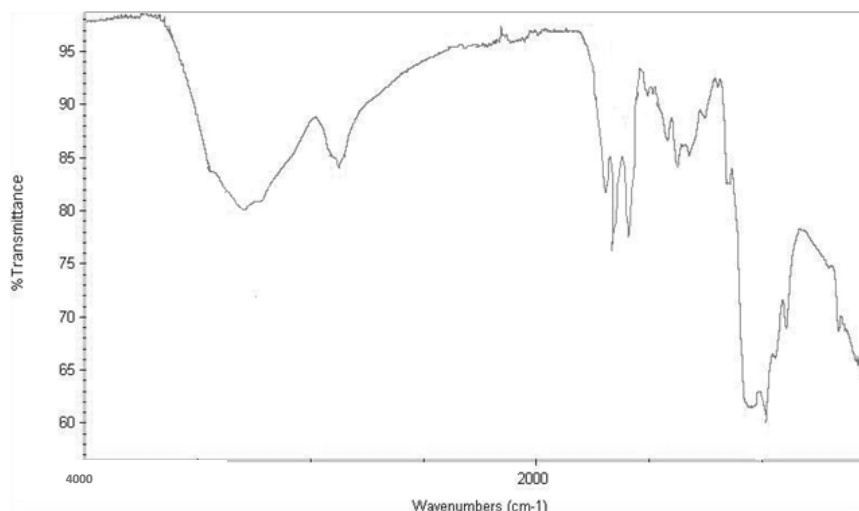


Figura 5.7 — Espectro de FTIR de Dextrano com grau de substituição de 33% modificado com PNIPAAm

Da Figura 5.7 podem retirar-se conclusões semelhantes às anteriores, ou seja, observa-se o desaparecimento dos picos característicos da ligação dupla, a 3010 cm^{-1} , por exemplo, e o aumento da intensidade nos picos característicos de PNIPAAm, a 1640 e 1550 cm^{-1} . No entanto, comparativamente com o espectro anterior, verifica-se que a intensidade destes últimos picos é superior, o que demonstra um aumento na quantidade de PNIPAAm introduzida, devido, possivelmente, ao aumento no grau de substituição dos grupos -OH e ao conseqüente incremento no número de ligações duplas disponíveis para a fotopolimerização.

Finalmente, comparando os espectros obtidos com os apresentados em capítulos anteriores, observa-se que, para este caso, a intensidade dos picos característicos de PNIPAAm é superior. No entanto, este facto não traduz uma maior concentração deste composto no gel, dado que alguns picos resultam da sobreposição de grupos funcionais que, no FTIR, apresentam bandas em locais semelhantes.

Mais uma vez, no entanto, os espectros acabam por não ser totalmente conclusivos relativamente à formação de um copolímero de enxerto ou se apenas ocorreu a reticulação do Dextrano e a fotopolimerização de NIPAAm. Mas, novamente foi efectuado o teste descrito na secção 3.3.2, utilizando Dextrano modificado e reticulado segundo o método descrito neste capítulo e NIPAAm polimerizada com recurso ao Irgacure®.

5.3.3. Determinação da Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST)

A determinação da temperatura de transição crítica de solução foi novamente avaliada segundo o método apresentado na secção 2.3.4 e já previamente utilizado para os outros géis.

Foram efectuados estudos para todos os sistemas, inclusive para soluções de Dextrano e PNIPAAm sem reacção, para verificar o comportamento das mesmas. A Figura 5.8 apresenta os resultados para a solução de Dextrano, PNIPAAm e ambos os sistemas com 25% e 33% de grau de modificação.

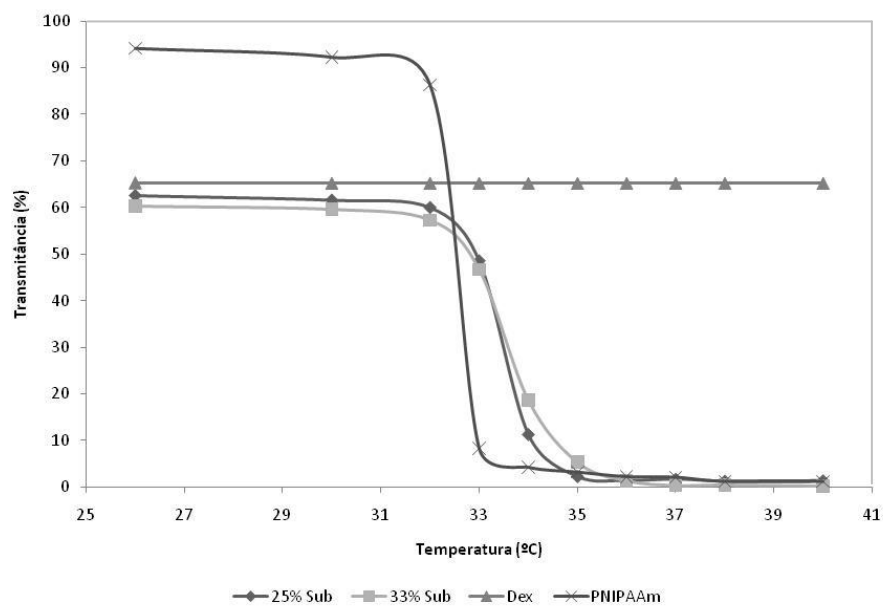


Figura 5.8 — Valores de absorvância obtidos para as soluções de Dextrano, PNIPAAm e ambos os sistemas com os diferentes graus de substituição.

Da figura anterior é possível sugerir diversas conclusões em relação aos valores de LCST obtidos. Novamente se observa que não ocorre qualquer modificação nos valores de transmitância para o caso do Dextrano puro, dado que, como já foi referenciado anteriormente, este não apresentou comportamento termossensível. Em relação à PNIPAAm obtida por fotopolimerização com Irgacure®, observa-se um comportamento distinto típico deste material com a LCST a situar-se próximo dos 32,5°C, em acordo com valores previamente determinados (Lu, *et al*, 2006). É também de salientar que esta transição se verifica de forma abrupta, frequentemente associada à pureza da solução.

Em relação ao sistema com 25% de substituição, pode observar-se que este também apresenta um comportamento termossensível, indiciando a introdução de PNIPAAm na composição final do gel. No entanto, verifica-se que a transição ocorre,

novamente, a temperaturas mais elevadas do que as determinadas para a solução de PNIPAAm pura. O valor obtido para este sistema foi de aproximadamente 33,5°C. Este comportamento fica a dever-se de igual forma à introdução de um material hidrofílico na solução de PNIPAAm (Cai, *et al*, 2005). No entanto, e comparando com os resultados obtidos para os géis apresentados no capítulo 3, aqueles que apresentam valores de PNIPAAm semelhantes aos apresentados neste capítulo, observa-se que os valores de LCST são inferiores para estes géis. Este facto pode ficar a dever-se à circunstância de, apesar de a quantidade de PNIPAAm ser aproximadamente semelhante, a hidrofobicidade destes géis ser superior devido à introdução do isocianato e conseqüente redução nos grupos –OH da molécula de Dextrano.

Com o aumento do grau de substituição dos grupos hidroxilo de 25% para 33%, verifica-se, como já foi referido na secção 5.3.1, um aumento da quantidade de NIPAAm introduzida. Este facto leva a um aumento da hidrofilicidade total do sistema a baixas temperaturas, pelo que se observa um aumento da LCST comparativamente com o resultado obtido para o sistema com menor grau de substituição. Verifica-se assim que a LCST deste se situa por volta dos 34°C. No entanto, comparando com as variações observadas para os sistemas apresentados nos capítulos anteriores, observa-se que os géis preparados por fotopolimerização apresentam variações inferiores na LCST em relação ao aumento da NIPAAm total no sistema. Este facto pode ficar a dever-se ao aumento não só do polímero termossensível, mas também do isocianato necessário para a modificação do Dextrano. Este aumento do total de Isocianato leva a um aumento da hidrofobicidade no sistema, contrariando o aumento na hidrofilicidade verificado pelo acréscimo de NIPAAm. Daí que, apesar de aumentar a LCST, este aumento não seja tão significativo pois, no global, o balanço entre o aumento de hidrofobicidade e hidrofilicidade do sistema é inferior ao observado para os outros sistemas anteriormente testados.

Para sistemas de Dextrano modificado observaram variações significativas da LCST. Para sistemas de Dextrano modificado com Ácido Maleico observa-se um

aumento mais significativo da LCST, devido a um aumento na hidrofiliidade do Ácido, sendo a LCST de aproximadamente 36°C (Tomme & Hennink, 2007).

5.3.4. Determinação da capacidade de absorção e liberação de água

A determinação da capacidade de absorção de água de um polímero foi novamente testada para a caracterização de cada sistema com hidrogel.

Foram efectuados inicialmente os estudos de absorção de água para cada sistema sintetizado. A Figura 5.9 apresenta os resultados obtidos para temperatura de 25°C.

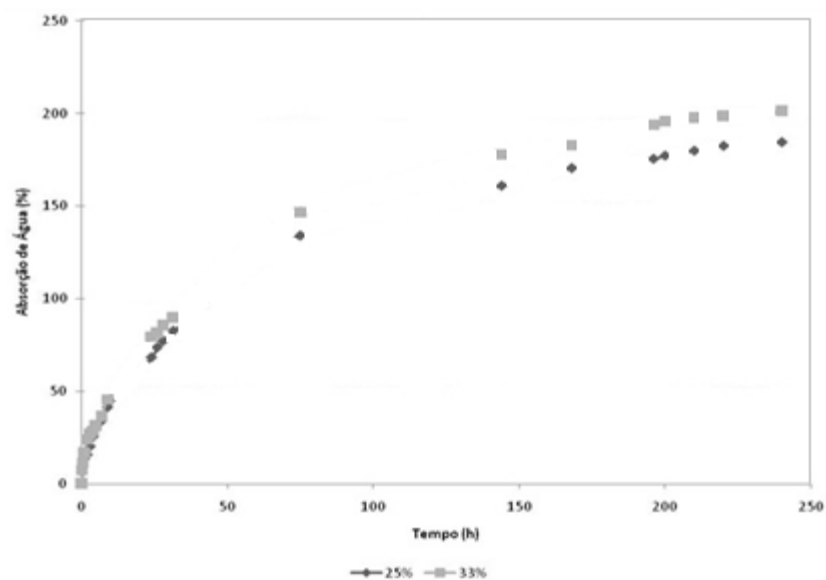


Figura 5.9 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 25°C.

Da observação da figura anterior verifica-se que ambos os sistemas apresentam um comportamento de hidrogel com absorções de água superiores a 100%, classificando-se, assim, como superabsorventes. O valor de absorção de água para o primeiro sistema situa-se próximo de 180%, enquanto para o segundo o valor obtido foi de 200%. Estas diferenças ficam, principalmente, a dever-se ao aumento da concentração de NIPAAm no gel com o aumento do grau de substituição, como se verificou anteriormente através da análise elementar apresentada na secção 5.3.1.

Este incremento leva a um aumento na hidrofiliicidade total do sistema originando um acréscimo no valor total de água absorvida pelo gel. No entanto, e comparativamente ao sucedido para os géis apresentados nos capítulos anteriores, nomeadamente para os sintetizados por radiação γ , verifica-se que a quantidade de água absorvida é menor para o mesmo grau de copolimerização. Este facto, como foi referenciado anteriormente, pode ficar a dever-se a uma maior hidrofobicidade do sistema, resultante da modificação do Dextrano com o Isocianato. Este aumento na hidrofobicidade resulta numa menor variação entre os diferentes graus de substituição e, ao mesmo tempo, num menor valor para a absorção de água dos mesmos. No entanto, apesar disso, os valores são bastante elevados, sendo superiores aos obtidos para os géis sintetizados com recurso ao NCA, dada a menor quantidade de PNIPAAm introduzida por esse método.

Novamente, para os valores obtidos anteriormente, foi efectuado o estudo para a determinação dos respectivos expoentes característicos de difusão.

A tabela 5.IV resume todos os valores para os expoentes característicos de difusão de água coeficiente de correlação para todos os sistemas testados.

Tabela 5.IV — Resultados obtidos para os expoentes de difusão de água e o coeficiente de correlação.

	<i>n</i>	Coeficiente de Correlação
25% de Substituição	0,500	0,994
33% de Substituição	0,515	0,991

A Tabela 5.IV mostra que todos os valores obtidos n , durante a absorção da mesma pelo polímero, foram semelhantes para ambos os sistemas, encontrando-se próximos de 0,5. Para o coeficiente de correlação os valores obtidos foram próximos da unidade, permitindo concluir que a aproximação linear efectuada foi a correcta. Estes valores, tal como referido anteriormente, permitem verificar que a absorção de água ocorre predominantemente de forma difusional para o interior dos géis, isto é, a diferença de concentração de água no exterior e no interior do gel leva a que as moléculas se desloquem para o interior do gel, levando à sua absorção e retenção (Peppas, 1985).

Um estudo semelhante foi efectuada a temperaturas mais elevadas de forma a avaliar a influência da mesma nesta característica. A Figura 5.10 mostra os resultados obtidos para a absorção de água para os sistemas colocados a 37°C.

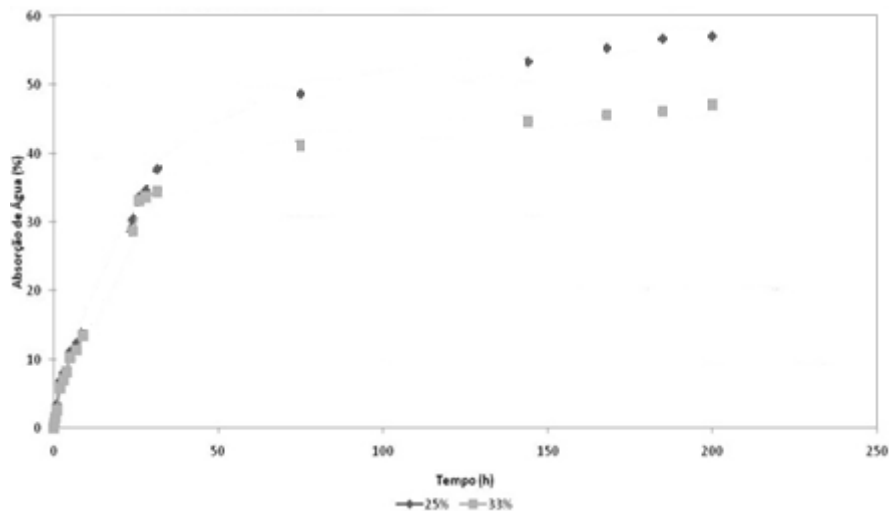


Figura 5.10 — Capacidade de absorção de água para os sistemas de Dextrano a 37°C.

Da figura anterior conclui-se que, novamente, todos os sistemas se comportam como hidrogéis, apresentando capacidades de absorção de água superiores a 10%. No entanto, comparativamente aos valores obtidos a 25°C verifica-se uma variação significativa dos mesmos, ocorrendo uma diminuição destes quando os sistemas se encontram a temperaturas superiores à temperatura de solução anteriormente determinada. Novamente se observa a inversão nos resultados, sendo que o sistema com maior concentração de NIPAAm é o que apresenta uma maior termosensibilidade e, conseqüentemente, uma maior variação nos valores, reduzindo-se a sua capacidade de absorção de água para cerca de 45%. Este factor mostra claramente a influência da temperatura no comportamento de cada gel. A agregação da NIPAAm introduzida no sistema leva a um aumento da hidrofobicidade do gel, devido principalmente à diminuição das ligações de hidrogénio das moléculas de PNIPAAm com as do meio, nomeadamente água. Este aumento de hidrofobicidade associa-se ainda à presença do Isocianato, que, por sua vez, ainda faz aumentar mais a hidrofobicidade do mesmo, levando a que para géis com valores semelhantes de copolimerização estes sejam os que apresentam menores valores de

absorção de água. Estas variações foram observadas variações semelhantes para sistemas com outras modificações de Dextrano, nomeadamente com Ácido Maleico (Kumashiro *et al*, 2004)

De forma idêntica, também para estes resultados foi efectuado um estudo para determinar os expoentes de difusão de cada sistema. Na tabela seguinte encontram-se resumidos os valores obtidos para n e o coeficiente de correlação para todos os sistemas.

Tabela 5.V — Resultados obtidos para os expoentes característicos da difusão de água e coeficiente de correlação para todos os sistemas de base Dextrano a 37°C.

	n	Coeficiente de Correlação
25% de Substituição	0,623	0,961
33% de substituição	0,642	0,945

Na tabela anterior é possível observar que os valores para o coeficiente cinético de absorção de água para ambos os sistemas são superiores aos verificados a temperaturas mais baixas, indiciando, novamente, o perfil termossensível dos géis sintetizados. Observa-se, pois, que os valores obtidos já se afastam do valor para a difusão do tipo Fickiano, 0,5, indicando que a absorção de água ocorre através de processos de difusão normal, mas também por variação nas cadeias poliméricas, nomeadamente a sua relaxação e conseqüente degradação. A dependência da absorção com as cadeias poliméricas é maior para o caso onde o grau de substituição, e conseqüente concentração de PNIPAAm no sistema, é maior. Ou seja, podemos afirmar que há uma dependência do grau de absorção de água com a temperatura, sendo que, quanto mais termossensível o sistema se torna, maior é essa dependência.

Comparativamente com os resultados anteriormente apresentados, verifica-se que os valores obtidos para estes sistemas se encontram em linha com os

apresentados para os sistemas caracterizados nos capítulos 3 e 4. Observa-se que o valor do coeficiente cinético se aproxima dos valores obtidos para os sistemas com concentrações de NIPAAm semelhantes, pelo que se pode reafirmar que é esta concentração, e conseqüente termodependência, que influencia os resultados finais obtidos.

Também em outros sistemas onde Dextrano foi previamente modificado para posterior polimerização se observou uma diminuição dos valores de absorção com o aumento da temperatura (Tomme & Hennink, 2004).

Seguidamente foi efectuado o estudo referente à libertação de água dos géis. Novamente, os ensaios foram efectuados após os ensaios de absorção, por colocação dos géis a atmosfera ambiente e à temperatura de 25°C. A figura seguinte apresenta os resultados obtidos para todos os sistemas estudados. Os resultados foram normalizados, por forma a poder comparar-se a evolução de todos.

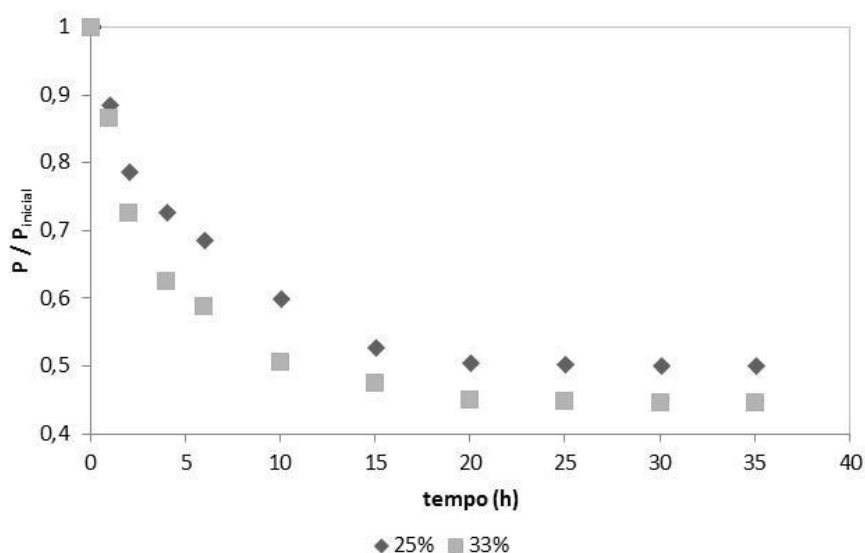


Figura 5.11 — Libertação de água de ambos os sistemas a 25°C.

Pela figura anterior observa-se que a libertação da água ocorre de forma mais rápida na fase inicial do ensaio. Após esta fase inicial de libertação ocorre uma progressiva estabilização no valor total de água libertada, podendo afirmar-se que, após 20 horas de ensaio, já não ocorre libertação. Observa-se também que, tal como sucedeu nos géis anteriormente apresentados, ocorre uma variação no total de água libertada, variação directamente relacionada com o total de NIPAAm introduzida no sistema. Deste modo, verifica-se que ocorre uma maior retenção de água no final do ensaio para os sistemas com maior percentagem de substituição e consequente maior concentração de PNIPAAm. Este resultado pode ser explicado pelo maior grau de reticulação que o gel apresenta devido a este aumento de concentração. Deste modo, o sistema é capaz de reter parte da água incluída no seu interior. Além disso, e comparativamente com os resultados obtidos para os géis sintetizados pelos métodos anteriormente descritos, verifica-se que a libertação de água é feita de uma forma mais lenta, o que pode traduzir um maior grau de reticulação obtido através deste método. Assim, a rede polimérica formada pelo Dextrano e PNIPAAm dificulta a libertação da água, permitindo um maior controlo sobre o total e a velocidade a que a água é libertada, de acordo com o grau de substituição utilizado, podendo as características do gel ajustar-se às situações pretendidas.

Para a determinação rigorosa do peso do gel totalmente inchado, foi necessário efectuar uma regressão linear aos valores obtidos para os primeiros 10 minutos de libertação, determinando-se, através da recta obtida, qual o peso do composto inchado. A tabela seguinte apresenta os resultados obtidos para os diferentes sistemas.

Tabela 5.VI — Capacidades de inchaço determinadas para cada sistema de base Dextrano.

Sistema	Capacidade de inchaço (%)
25% de substituição	181
33% de substituição	207

Da tabela anterior é possível concluir que os valores determinados matematicamente estão de acordo com os obtidos durante os ensaios de absorção de água. No entanto, observa-se novamente que estes não são valores idênticos, dado que, para os valores obtidos na absorção de água, alguma libertação ocorreu entre o fim do ensaio e a medição do peso da amostra. No entanto, globalmente, os valores são semelhantes, observando-se uma maior capacidade de absorção de água para o sistema com maior grau de substituição e conseqüente maior concentração de PNIPAAm.

Um estudo idêntico foi efectuado a 37°C para verificar a influência da temperatura no comportamento final do sistema. A Figura 5.12 apresenta os resultados obtidos para ambos os sistemas de base Dextrano.

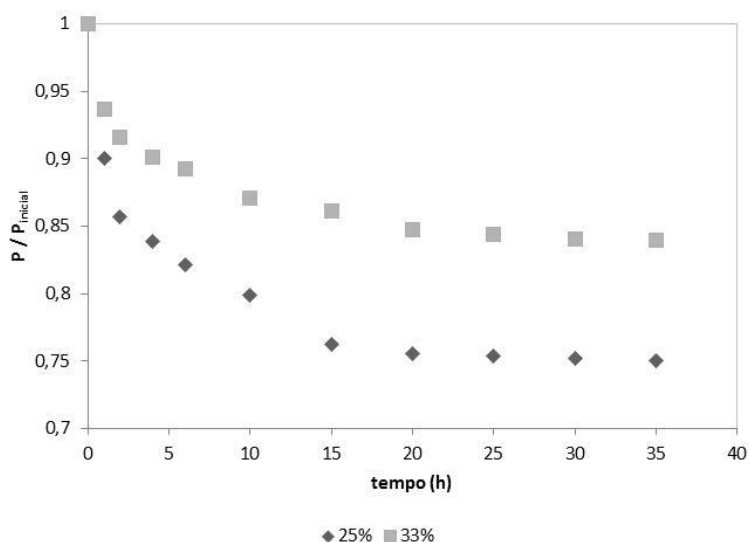


Figura 5.12 — Libertação de água dos sistemas de base Dextrano a 37°C.

Mais uma vez, e tal como se observou para a absorção de água, verifica-se uma diferença acentuada nos resultados obtidos a temperaturas superiores a LCST, denotando uma clara termodependência das propriedades estudadas. Desta forma, observa-se que para ambos os sistemas se verificou uma menor libertação de água para um período de tempo idêntico. Tal facto pode ficar a dever-se à agregação da PNIPAAm na amostra devido à temperatura, deste modo impedindo a saída da água do interior do sistema. Para além disso, o aumento do grau de reticulação, como foi referido anteriormente, também justifica uma libertação menor de água do sistema. Observa-se assim uma libertação imediata de água no início do ensaio, semelhante a um *burst*, devido, principalmente, à gelificação da PNIPAAm, o que leva, como já foi referido anteriormente, a uma libertação imediata da água retida à superfície ou próximo dela. Posteriormente, observa-se uma libertação mais lenta, inclusive quando comparada com os sistemas descritos anteriormente, facto que se deve a um possível maior grau de reticulação do gel obtido através de fotopolimerização.

Efectivamente, verifica-se que quanto maior o grau de substituição de cada amostra, e conseqüente aumento da concentração de PNIPAAm no gel, menor a água libertada pela amostra e mais lenta a libertação da mesma. Esta variação significativa permite, de acordo com a concentração de PNIPAAm no sistema e com a libertação de água pretendida, controlar a libertação do hidrogel e a conseqüente hidratação da zona afectada.

Foi também determinada a capacidade de absorção de água por via matemática, apresentando-se na tabela seguinte os resultados.

Tabela 5.VII – Valores matemáticos obtidos para a absorção de água a 37°C.

Sistema	Capacidade de Inchaço (%)
25% de substituição	61
33% de substituição	51

Tal como se verificou para a temperatura de 25°C, também neste sistema se observou uma semelhança entre os valores obtidos experimentalmente e os valores matemáticos. No entanto, e em consonância com o caso anterior, também a 37°C os valores matemáticos são ligeiramente superiores aos experimentais, podendo, no entanto, explicar-se a diferença da mesma forma que para os géis a 25°C. Observa-se, no entanto, que os valores para a absorção de água, em comparação com sistemas com a mesma percentagem de NIPAAm introduzida, são, como referido, inferiores. A justificação foi já apresentada e deve-se, como referido, à introdução do isocianato, necessário à reacção de fotopolimerização, o que levou a um aumento da hidrofobicidade total do sistema. No entanto, podemos concluir que ambos os sistemas são hidrogéis.

5.3.5. Determinação dos ângulos de contacto e energias de superfície

A determinação dos ângulos de contacto da água com o material permite determinar como salientado, qual o grau de hidrofobicidade/hidrofilicidade de cada sistema. Para além disso, a determinação dos ângulos de contacto e das respectivas energias de superfície constitui uma forma de avaliar a interacção entre a pele e o gel, permitindo verificar a adesividade e a biocompatibilidade do mesmo. O método utilizado para a determinação dos valores foi idêntico ao apresentado nos capítulos anteriores.

De novo, em primeiro lugar, foi determinado o valor do ângulo de contacto com a água, para verificar e comprovar os valores obtidos para a absorção de água.

A tabela seguinte apresenta os valores obtidos para os ângulos de contacto com a água e os géis.

Tabela 5.VIII — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 25°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
25% de substituição	68,9
33% de substituição	61,5

Da tabela anterior verifica-se que os ângulos de contacto obtidos com a água apresentam valores relativamente baixos, mostrando a hidrofiliçidade de cada sistema. Este resultado encontra-se de acordo com o esperado, tendo em consideração os resultados obtidos para a absorção de água já anteriormente apresentados. Mais uma vez se salienta uma diminuição nos valores obtidos para os ângulos de contacto com o aumento do grau de substituição dos grupos hidroxilo, denotando um aumento na hidrofiliçidade do sistema, resultante, como referido, do aumento na concentração de PNIPAAm no sistema. Associado a estes valores elevados de hidrofiliçidade está também o peso molecular do Dextrano utilizado que aumenta mais ainda a interacção das cadeias com a água.

Comparativamente com os sistemas anteriores, e principalmente com os sistemas com valores semelhantes de copolímero introduzido, observa-se, tal como salientado, que os valores de hidrofiliçidade destes sistemas são ligeiramente inferiores, ou seja, apresentam ângulos de contacto maiores. Este facto fica, pois, a dever-se, possivelmente à introdução do Isocianato no sistema, molécula que, devido à sua estrutura, aumenta a hidrofobicidade total do gel. Para além disso, a substituição de grupos hidroxilo por outros, nomeadamente o uretano, leva também a uma diminuição global de hidrofiliçidade, justificando, deste modo os resultados obtidos.

Com o aumento da temperatura, e dado o carácter termodependente dos géis obtidos, observaram-se diversas alterações aos valores do ângulo de contacto com a água obtido. Os resultados encontram-se na Tabela 5.IX.

Tabela 5.IX — Ângulos de contacto obtidos com os géis e a água a 37°C.

Sistema	Ângulo de Contacto
25% de substituição	117,5
33% de substituição	132,5

De acordo com a Tabela 5.IX, verifica-se que ambos os sistemas apresentam valores elevados para o ângulo de contacto com a água determinado, denotando um aumento na sua hidrofobicidade, resultado semelhante ao obtido para a capacidade de absorção de água e, mais uma vez, evidenciando o carácter termodependente dos géis obtidos, dado que, a um aumento da temperatura para valores superiores aos da LCST determinada, se observa uma diferença drástica da hidrofobicidade do material. Esta evidência é ainda mais salientada quando se verifica que, com o aumento da concentração de PNIPAAm no sistema, de acordo com o grau de substituição da amostra, maior é a diferença entre os resultados obtidos para as temperaturas testadas. Novamente se observa, no entanto, que estes sistemas apresentam um acréscimo nos valores do ângulo de contacto com a água, resultante do aumento global de hidrofobicidade pela introdução na molécula do Isocianato.

A determinação dos valores para a energia de superfície de cada gel foi efectuada através da medição dos valores dos ângulos de contacto de cada gel com água, formamida, etilenoglicol e propilenoglicol, determinando-se as componentes dispersiva e polar de cada gel e a sua respectiva energia de superfície, com recurso ao método Owens-Wendt-Rabel e Kaelble, comparando-a posteriormente com a da pele (Venkatraman & Gale, 1998). Os resultados obtidos encontram-se na tabela seguinte:

Tabela 5.X — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 25°C.

Sistema	Energia de		
	Superfície (mN/m)	γ_s^P (mN/m)	γ_s^D (mN/m)
25 % de substituição	29,8	20,1	9,7
33 % de substituição	31,2	23,2	8,1
Pele	38-56	-	-

Como se pode observar na tabela anterior, os resultados obtidos mostram que para todos os géis estudados a componente polar destes é superior à componente dispersiva. Este resultado era esperado dada a relativa hidrofiliçidade apresentada por todos os sistemas em caracterizações anteriores. É, pois, de esperar que, com o aumento do grau de substituição, esta componente tenha aumentado em virtude da maior quantidade de PNIPAAm introduzida, sendo que, a temperaturas inferiores à LCST, este composto apresenta, como referido, um comportamento hidrofílico. Este resultado demonstra que as interações observadas entre o líquido e o gel são interações mais entre dipolos permanentes e induzidos ou mesmo entre ligações de hidrogénio. Para além disso, observa-se que os valores obtidos para a energia de superfície são inferiores, em ambos, à gama de valores determinados para a pele. Este facto, como salientado anteriormente, permite afirmar que as forças adesivas do gel com a pele serão superiores às forças coesivas do próprio gel. Tal facto, vai permitir a adesão e o espalhamento do gel pela pele. No entanto, comparativamente aos resultados anteriores, observa-se novamente, menores valores da componente polar para os sistemas obtidos através deste método, o que revela, uma maior hidrofobicidade destes. No entanto, esta diminuição da componente polar e, conseqüente, aumento da componente dispersiva não levou a um aumento muito significativo da energia de superfície.

Para a temperatura de 37°C, o estudo efectuado foi semelhante ao anterior, e os resultados obtidos foram os seguintes:

Tabela 5.XI — Valores obtidos para as componentes dispersiva e polar de cada gel obtido e respectiva energia de superfície para 37°C.

Sistema	Energia de Superfície (mN/m)	γ_s^P (mN/m)	γ_s^D (mN/m)
25% de substituição	25,1	14,2	10,9
33% de substituição	24,8	12,7	12,1
Pele	38-56	-	-

Como se pode observar da tabela anterior, e comparativamente com a tabela com os valores obtidos a 25°C, neste caso verificam-se grandes diferenças nos valores obtidos. Mais uma vez, a componente polar dos géis apresentou valores superiores à componente dispersiva, justificado pela hidrofiliabilidade apresentada pelos géis. No entanto, é de salientar a grande diminuição do valor desta componente comparativamente com o caso anterior. Tal diferença pode ser justificada pela presença de PNIPAAm, que por precipitação diminui as interações polares entre as moléculas do gel e as do líquido. Este resultado também se observa no aumento significativo da componente dispersiva, que, ao aumentar, está a promover uma maior coesão do gel. Para além disso, o aumento da hidrofobicidade do sistema, inerente à introdução do Isocianato, leva a um aumento superior da componente dispersiva do gel quando comparada com os valores obtidos para os sistemas obtidos anteriormente. No entanto, e apesar destas alterações inerentes à transição térmica sofrida pelo gel, os valores obtidos para a energia de superfície permitem verificar que os géis irão, em contacto com a pele, ter um comportamento adesivo, permitindo por isso a possível libertação do fármaco na pele.

5.3.6. Avaliação do padrão de libertação do fármaco

A avaliação do padrão de libertação do fármaco foi efectuada para a caracterização final do gel como sistema de libertação controlada. O fármaco utilizado, tal como nos sistemas anteriores, foi o Ondansetron® e o método utilizado foi semelhante ao apresentado para os sistemas obtidos por irradiação γ .

Deste modo, e para evitar que as radiações utilizadas na fotopolimerização alterassem as características do fármaco, foi decidido que o Ondansetron® seria introduzido nos géis por absorção de uma solução concentrada deste. Para tal, foram preparadas soluções contendo 4 mg de fármaco em 5 ml de soro fisiológico. Cada membrana foi colocada numa solução e deixada durante 24 horas em absorção, tempo ao fim do qual cada gel foi retirado e medida a absorvância da solução, depois comparada com a absorvância medida inicialmente. A diferença entre os dois valores obtidos permitiu determinar a quantidade efectiva de fármaco absorvido por cada gel.

A Tabela 5.XII apresenta os valores obtidos para a quantidade de fármaco introduzido em cada sistema.

Tabela 5.XII — Valores de fármaco absorvido por cada sistema.

Sistema	$T = 25^{\circ}C$	$T = 37^{\circ}C$
	Fármaco Absorvido (mg/g polímero)	Fármaco Absorvido (mg/g polímero)
25% de substituição	1,215	1,058
33% de substituição	1,896	0,558

Na tabela 5.XII é possível verificar que os resultados obtidos para a quantidade de fármaco introduzido no gel por absorção se encontram intimamente relacionados com os resultados apresentados anteriormente para a capacidade de

absorção. Esta conclusão é semelhante à verificada para a absorção de água, dado que é através desta que o fármaco é colocado no sistema. Esta conclusão é também corroborada pelo carácter termossensível apresentado pelos sistemas e pelas diferenças observadas quando a temperatura era alterada. Deste modo, observa-se uma diminuição do total de fármaco introduzido no sistema com o aumento da temperatura, verificando-se também que esta redução é superior nos sistemas onde a concentração final de PNIPAAm é superior. Mais uma vez, e tal como foi explicado para a absorção de água, este resultado poderá ficar a dever-se à agregação das cadeias poliméricas de PNIPAAm com a temperatura e que, formando uma barreira, impedem a entrada do fármaco. Para além disso, observa-se uma menor quantidade de fármaco introduzida no sistema comparativamente com os resultados obtidos no capítulo 3, podendo justificar-se essa diferença com um possível aumento do grau de reticulação do gel e consequente diminuição da sua hidrofiliidade.

Globalmente, no entanto, podemos afirmar que a quantidade de fármaco introduzido em cada sistema se encontra directamente relacionado com a capacidade de absorção do meio de cada um.

Após a introdução do fármaco nos sistemas, foram efectuados os ensaios de libertação.

A figura seguinte apresenta os resultados obtidos para os sistemas a 25°C de temperatura.

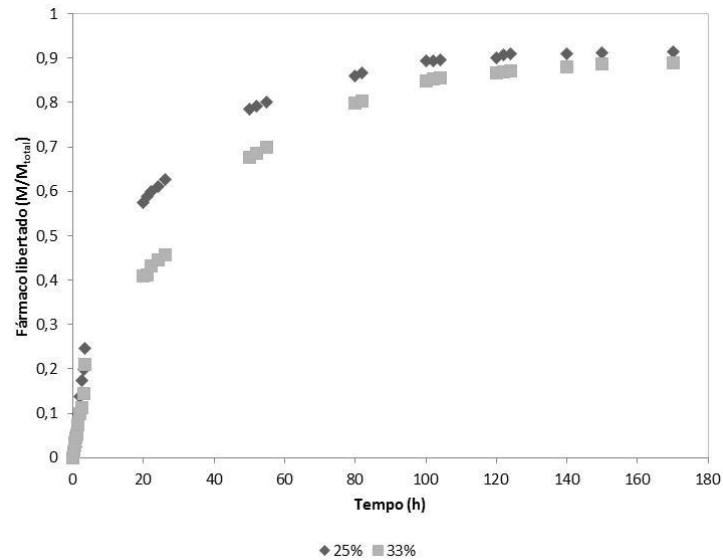


Figura 5.13 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas a 25°C.

Na figura anterior é possível verificar que ambos os sistemas apresentam um comportamento semelhante para a quantidade de fármaco libertado. Observa-se uma libertação mais acentuada no início, seguida de uma fase mais lenta e controlada de libertação até à estabilidade. Este facto resulta, em primeiro lugar, da diferença de concentrações de fármaco entre o interior do gel e o meio envolvente, levando à difusão deste através das cadeias poliméricas para o meio exterior. Para além disso, e dado o método utilizado para a introdução do fármaco no sistema, é de prever que parte deste se encontre adsorvido à superfície, levando a que este se liberte imediatamente.

Em relação ao total libertado, é possível observar que a quantidade final foi quase a totalidade da inicialmente absorvida por cada sistema apresentando ambos os sistemas valores finais próximos dos 90% do total inicialmente colocado.

Mais uma vez um estudo semelhante foi efectuado a 37°C e os resultados obtidos apresentados na figura seguinte:

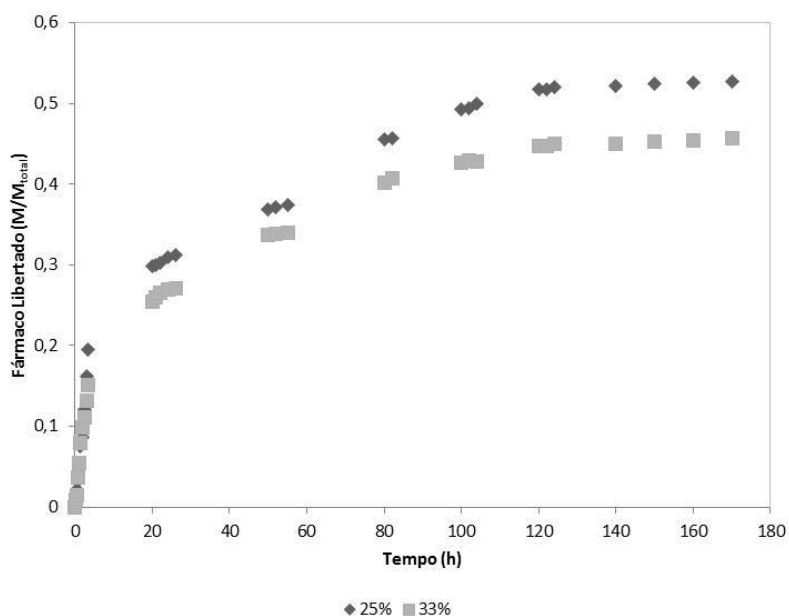


Figura 5.14 — Resultados obtidos para a libertação de fármaco para os sistemas a 37°C.

A figura anterior mostra uma clara diferença de comportamento de ambos os géis quando colocados a uma temperatura superior à LCST, reforçando, mais uma vez, o carácter termossensível destes. Os resultados mostram ainda uma variação significativa com uma diminuição, por vezes acentuada, quer da velocidade de libertação quer da própria quantidade de fármaco libertado pelos sistemas. Verifica-se novamente uma libertação inicial muito rápida, devida, tal como justificado anteriormente, à diferença de concentrações de fármaco entre o gel e o meio. No entanto, para além deste factor, a contracção das cadeias poliméricas devida ao aumento da temperatura e ao carácter termossensível do gel leva a uma rápida «expulsão» do conteúdo colocado na superfície do gel devido à contracção das cadeias. Deste modo, o fármaco é impellido a libertar-se mais rapidamente.

Após esta libertação inicial, observa-se a formação de um patamar muito prolongado onde a libertação do fármaco é mínima, ao contrário do que acontecia nos sistemas a 25°C. Este resultado é em parte também justificado pelo comportamento das cadeias poliméricas de PNIPAAm, as quais, ao agregarem, vão formar uma barreira, impedindo e retendo o conteúdo no seu interior — neste caso, o fármaco, que assim irá ser impedido de se libertar. Para além disso, o possível maior grau de reticulação, devido às ligações formadas entre PNIPAAm e Dextrano, leva a um maior controlo da quantidade libertada a partir do interior do sistema. Por esta razão temos libertações mais prolongadas e de forma mais controlada para estes sistemas comparativamente a todos os outros apresentados anteriormente. Deste modo, os valores obtidos para o total de fármaco libertado foram significativamente inferiores aos encontrados para os mesmos sistemas colocados a temperaturas superiores.

Para a determinação dos coeficientes de difusão para ambos os sistemas, foi utilizada de novo a expressão 3.16 apresentada na secção 3.3.7.1. Os resultados são os que se apresentam na tabela seguinte:

Tabela 5.XIII – Coeficientes de difusão e de correlação obtidos para os sistemas a 25°C e a 37°C.

Grau de Substituição	T=25°C		T=37°C	
	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação	Coeficiente de Difusão (cm ² /h)	Coeficiente de correlação
25%	0,0954	0,991	0,0538	0,989
33%	0,0474	0,992	0,00798	0,994

Os resultados anteriores mostram, em primeiro lugar, que a regressão utilizada se aproximou bastante dos valores experimentais obtidos, apresentando coeficientes de correlação perto da unidade. Relativamente aos valores obtidos para o coeficiente de difusão, verifica-se que, tal como observado no perfil de libertação,

o sistema com menor grau de substituição apresenta um valor superior ao de maior de 33%, resultando numa libertação mais rápida no primeiro caso. Esta redução está, tal como sucedia nos capítulos anteriores, com o aumento do copolímero introduzido no sistema e um aumento do grau de reticulação do gel, levando a um maior controlo na libertação do fármaco. Com o aumento da temperatura, observou-se uma diminuição acentuada dos valores para ambos os coeficientes de difusão, denotando uma maior dificuldade do fármaco em se difundir pela matriz polimérica devido à agregação das cadeias de NIPAAm devido ao aumento da temperatura.

De seguida foi determinado, matematicamente, qual o tipo de difusão observado em cada caso recorrendo à expressão 3.3 apresentada na secção 3.3.5.1.

A tabela seguinte resume os valores determinados para todos os sistemas a ambas as temperaturas.

Tabela 5.XIV — Valores obtidos através da regressão linear para os coeficientes característicos da libertação controlada de Ondansetron® para os sistemas estudados.

Sistema	T=25°C			T=37°C		
	n	k(h ⁿ)	R ²	n	k(h ⁿ)	R ²
25% sub.	0,516	0,0734	0,985	0,555	0,0369	0,989
33% sub.	0,525	0,0647	0,986	0,587	0,0283	0,996

Da tabela anterior podem ser retiradas diversas conclusões em relação ao tipo de difusão presente em cada situação. Globalmente, podemos novamente afirmar que este tipo de aproximação utilizado para determinação dos parâmetros característicos da difusão foi adequado, uma vez que todos os sistemas apresentam valores para o coeficiente de correlação próximos da unidade. Para os sistemas colocados a 25°C observa-se que ambos apresentam valores para o expoente

característico da difusão próximos de 0,5, podendo todos ser considerados sistemas com difusão de fármaco do tipo Fickiana (Peppas, 1985). Ou seja, é a difusão do fármaco, resultante da diferença de concentrações entre o exterior e o interior, que vai levar à libertação do mesmo no interior do gel. Observa-se que, comparativamente aos sistemas apresentados no capítulo 3, os valores obtidos para o expoente de difusão são mais próximos dos característicos de uma difusão do tipo Fickiana, possivelmente justificados pelo maior grau de reticulação apresentado pelos sistemas devido ao tipo de reação envolvida neste método.

Relativamente ao parâmetro k , observa-se uma diminuição deste com o aumento do grau de substituição, traduzindo, mais uma vez, uma libertação mais lenta do fármaco, associada a interações e geometria do gel.

Com o aumento da temperatura, observam-se alterações mais significativas nos valores obtidos, apesar de, mais uma vez, se encontrarem próximos de 0,5. Verifica-se que, com o aumento da concentração de PNIPAAm, o valor de n se afasta de 0,5 e do tipo de difusão Fickiana, levando a uma difusão controlada, não só pelos mecanismos de difusão normais mas também pela própria estrutura polimérica, levando a um misto de difusão do tipo Fickiana e do tipo não-Fickiana. Este resultado era em parte esperado dado que, para maior concentração de PNIPAAm, o gel sofre uma alteração significativa ao nível da sua estrutura, sendo essa alteração responsável pelo controlo na libertação do fármaco.

5.4. Conclusões

Dos resultados apresentados em todo o capítulo podem ser retiradas diversas conclusões, a primeira das quais é a de que o método inovador utilizado para esta polimerização, ou seja, a modificação do Dextrano com recurso a um isocianato e posterior fotopolimerização do mesmo é eficaz na síntese de um sistema

de libertação controlada com propriedades termosensíveis. Através da variação do grau de substituição dos grupos hidroxilo presentes no Dextrano, foi possível obter géis com propriedades distintas. A introdução primeiramente das ligações duplas foi observada com recurso ao FTIR, comprovando a variação na concentração destas no Dextrano consoante o grau de substituição. Este facto fez, simultaneamente, variar a quantidade de NIPAAm introduzida em cada sistema, verificando-se que para o sistema com maior grau de substituição, e conseqüente maior número de grupos vinílicos disponíveis, ocorria um aumento de PNIPAAm no gel. Concluiu-se assim que quanto maior o grau de substituição dos grupos -OH maior a concentração de NIPAAm introduzida no gel. Este facto foi facilmente comprovado com recurso ao FTIR-ATR. A quantidade introduzida foi semelhante à determinada para o caso dos géis obtidos por irradiação γ .

Uma outra conclusão retirada foi a de que é possível alterar a temperatura crítica de transição da PNIPAAm com a introdução de diferentes materiais, podendo adaptá-la a diferentes circunstâncias. Neste caso, observou-se uma variação nesta temperatura para valores mais próximos da temperatura corporal humana, obtendo-se temperaturas entre os 33 e 34°C. Estes valores são ligeiramente inferiores aos obtidos para outros sistemas com semelhante concentração em PNIPAAm, ficando este facto a dever-se à presença de um composto mais hidrofóbico no gel, o isocianato.

A capacidade de absorção de água mostrou uma clara dependência da temperatura à qual eram realizados os ensaios, verificando-se que, para temperaturas inferiores, os sistemas se comportavam como superabsorventes, com valores de absorção de água superiores a 100%, enquanto para os sistemas a temperaturas superiores a LCST tínhamos apenas hidrogéis com absorções inferiores às registadas. Verificou-se também novamente a influência da utilização do IEMA nestes compostos, ao fazer diminuir a hidrofilicidade do sistema em geral e, conseqüentemente, a sua capacidade de absorção de água comparativamente a outros sistemas.

Os ângulos de contacto permitiram, em primeiro lugar, confirmar os resultados obtidos para a absorção de água e, bem assim, todas as conclusões retiradas para esta propriedade. Para além disso, permitiram determinar os valores para as tensões superficiais dos géis comparando-os com os valores conhecidos para a pele. Concluiu-se que todos os sistemas, independente da temperatura a que forem colocados, apresentaram um comportamento adesivo à pele. Observaram-se as variações expectáveis nas componentes polar e dispersiva de cada gel com a temperatura, mas, na globalidade, a principal conclusão manteve-se independente da temperatura. Novamente, e de acordo com o expandido anteriormente, os valores destas componentes foram ligeiramente diferentes dos obtidos para outros sistemas, mas, no global, esta variação acabou por não se reflectir de forma acentuada nos valores obtidos para a energia de superfície de cada gel.

Finalmente, os ensaios de libertação de Ondansetron® revelaram uma libertação do tipo Fickiano para os géis colocados a temperaturas inferiores a LCST, independente do grau de substituição utilizado. No entanto, com o aumento da temperatura, observou-se uma diminuição na quantidade de fármaco libertado e no tipo de libertação, verificando-se que alguns sistemas já apresentavam libertações do tipo não-Fickiano, ou seja, dependente não só do gradiente de concentrações do meio, mas também da estrutura polimérica do mesmo. Tal facto encontra-se relacionado, como referido anteriormente, com o aumento da concentração de PNIPAAm no sistema e com a sua precipitação devido à variação da temperatura.

Globalmente, é de salientar, no entanto, a novidade no tipo de reacção experimentado e nos resultados positivos por ela apresentados. Conseguiu-se assim encontrar um método simples de modificar o Dextrano com a introdução no polissacarídeo de ligações duplas capazes de serem utilizadas para diversos fins, nomeadamente, para a síntese de géis com propriedades termossensíveis, recorrendo apenas à fotopolimerização.

Bibliografia

Allen, N.S., *et al*, "Photochemistry and photoinduced chemical crosslinking activity of type I & II co-reactive photoinitiators in acrylated prepolymers", *Journal of photochemistry and photobiology A*, 1999, 126 (1), 135-149.

Benson, R.S., "Use of radiation in Biomaterials Science", *Nuclear Instruments and Methods B*, 2002, 191(1-4), 752-757.

Cai, Hong, *et al*, "Synthesis and characterization of thermo- and pH- sensitive hydrogels based on Chitosan-grafted N-Isopropylacrylamide via γ -radiation", *Radiation Physics and Chemistry*, 2005, 74, 26-30.

Ciardelli, Gianluca, *et al*, "Blends of Poly-(ϵ -caprolactone) and Polysaccharides in Tissue Engineering Applications", *Biomacromolecules*, 2005, 6, 1961-1976.

Corrales, T., *et al*, "Free radical macrophotoinitiators: an overview on recent advances", *Journal of Photochemistry and Photobiology A*, 2003, 159(2), 103-114.

Cruise, G.M., *et al*, "In vitro and in vivo performance of porcine islets encapsulated in interfacially photopolymerized poly (ethylene glycol) diacrylate membranes", *Cell Transplant*, 1999, 8(3), 293-306.

Decker, C., "Kinetics Study and New Applications of UV Radiation Curing", *Macromolecules Rapid Communication*, 2002, 23(18), 1067-1093.

Ferreira, P., *et al*, "Development of a new photocrosslinkable biodegradable diadhesive", *International Journal of Pharmaceutics*, 2008, 352(1-2), 172-181.

Huang, Misty, "Liquid photopolymer useful in fabricating printing plates which are resistant to solvent based ink", *United States Patent 6555292*, 2003.

Katsumoto, Yukiteru, *et al*, "Conformational Change of Poly(N-Isopropylacrylamide during the Coil-Globule Transition Investigated by Attenuated Total

Reflection/Infrared Spectroscopy and Density Functional Theory Calculation”, *Journal of Physical Chemistry A*, 2002, 106, 3429-3435.

Kraus, K. H., Kirker-Head, C., “Mesenchymal Stem Cells and Bone Regeneration”, *Veterinary Surgery*, 2006, 35(3), 232-242.

Kumashiro, Y., *et al*, “Dextran Hydrogels Containing Poly(N-Isopropylacrylamide) as Grafts and Cross-linkers Exhibiting Enzymatic Regulation in a Specific Temperature Range”, *Macromolecule Rapid Communication*, 2004, 25, 867-872.

Li, Q., *et al*, “Biodegradable and photocrosslinkable polyphosphoester hydrogel”, *Biomaterials*, 2006, 27(7), 1027-1034.

Lu Diannan, *et al*, “Dextran-grafted-PNIPAAm as an artificial chaperone for protein refolding”, *Biochemical Engineering Journal*, 2006, 27, 336-343.

Napadensky, Eduardo, “Ink-Jet 3D printing of Photopolymers Materials: An Emerging Rapid prototyping Technology”, *RadTech Europe 2005 Conference & Exhibition*, 2005.

Nguyen, K. T., West, J. L., “Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications”, *Biomaterials*, 2002, 23(22), 4307-4314.

Peppas, N.A., “Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers”, *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 1985, 60, 110-111.

Tomme, S.R.V., Hennink, W.E, “ Biodegradable dextran hydrogels for protein delivery applications”, *Expert Review of Medical Devices* , 2007, 4, 147-164.

Venkatraman, S., Gale, r., “Skin adhesives and skin adhesion”, *Biomaterials*, 1998, 19(13), 1119-1136.

Williams, C.G., *et al*, “Variable cytocompatibility of six cell lines with photoinitiators used for polymerizing hydrogels and cell encapsulation, *Biomaterials*, 2005, 26(11), 1211-1218.

6. Conclusões

Considerando os objectivos a que nos propusemos com este trabalho — estudar diversos sistemas de libertação controlada com vista à eventual aplicação de materiais poliméricos na área dos biomateriais —, que serve de tese de doutoramento, somos de concluir que os mesmos foram alcançados. E fundamentamos esta nossa certeza nas conclusões que retirámos dos resultados obtidos e da importância destes quando comparados com os de outros trabalhos científicos já apresentados internacionalmente.

Deste logo, e em primeiro lugar, verificou-se ser possível atingir os objectivos inicialmente propostos para o trabalho, tendo-se conseguido sintetizar com sucesso diversos sistemas de libertação controlada de com recurso a três diferentes métodos de polimerização: uma recorrendo à polimerização por radiação γ ; outra através de um iniciador químico, o Nitrato de Cérium-Amónio (IV); e outra que consistiu numa modificação prévia de Dextrano com a introdução de ligações duplas e posterior fotopolimerização. Estes foram caracterizados segundo diversas técnicas que permitiram avaliar características importantes para a sua aplicação como sistema de libertação controlada.

Verificou-se que a partir das três técnicas utilizadas se consegue obter com sucesso um sistema termossensível de libertação controlada, isto é, um hidrogel que apresenta variações das suas características principais com a variação da temperatura.

Do mesmo modo, verificou-se também que para todos os sistemas a temperatura de transição se situou perto da temperatura corporal, sendo possível controlar a mesma modificando para tal a quantidade de poli(N-Isopropilacrilamida) introduzida no sistema. Para efectuar esta modificação, foram feitos ensaios com diferentes tempos de reacção, permitindo assim observar a evolução da

concentração daquela substância no hidrogel e efectuar uma análise mais profunda da polimerização face ao que actualmente pode ser encontrado na literatura.

Deste modo, e para todos os sistemas, observou-se um acréscimo de PNIPAAm no sistema de libertação final com o aumento do tempo de reacção total. No entanto, as diversas técnicas de caracterização utilizadas, nomeadamente a análise elementar e a FTIR-ATR, permitiram observar que os sistemas preparados por iniciação química apresentavam valores menores de PNIPAAm, tendo, por isso, menores variações da temperatura de transição. Relativamente aos outros dois métodos utilizados, observou-se que estes já apresentavam maiores valores de PNIPAAm, possuindo, por isso mesmo, maiores variações na temperatura crítica de solução de acordo com o tempo de reacção das amostras. Este resultado permitiu concluir que é possível sintetizar sistemas de libertação controlada com diferentes LCST e, conseqüentemente, características distintas, que permitem a sua aplicação em diversas áreas, quer da Biomedicina quer de outros campos de aplicação dos mesmos. Dentro da própria medicina, é possível utilizar estes sistemas em diferentes aplicações, por exemplo em oftalmologia, onde a temperatura de transição seria mais baixa, ou em ortopedia, onde a temperatura de transição seria, necessariamente, a temperatura corporal.

Relativamente às outras características estudadas, observou-se que todos os sistemas apresentavam elevada capacidade de absorção de água, sendo por isso todos classificados como hidrogéis. No entanto, verificou-se uma dependência desta propriedade com a quantidade de NIPAAm introduzida e com a temperatura a que cada ensaio era realizado. Assim, observou-se que todos os sistemas se tornavam altamente hidrofóbicos com o aumento da temperatura, em resultado da gelificação da PNIPAAm. O grau de hidrofiliidade/hidrofobicidade variava consoante o tempo de reacção e a temperatura do ensaio, sendo que os sistemas preparados por irradiação ou fotopolimerização apresentavam variações mais significativas no que dizia respeito a esta propriedade.

Estudámos também a cinética de libertação de água com o objectivo de aplicar estes sistemas para a hidratação de zonas queimadas. Trata-se de um estudo

inovador que trouxe novas informações, até agora desconhecidas, sobre este tipo de sistemas. Deste modo, verificou-se que os sistemas estudados, com o aumento da temperatura, retinham parte da água no seu interior, permitindo assim controlar quer a quantidade de água libertada quer a velocidade a que o processo ocorre. Assim, e de acordo com as necessidades, será possível aplicar qualquer tipo de sistema preparado, o que demonstra a grande versatilidade dos hidrogéis obtidos.

Outra questão estudada em todos os sistemas por nós preparados foi a da energia de superfície e das suas capacidades de adesão à pele. Tratou-se também de estudo inédito para estes sistemas, ainda não efectuado anteriormente, que permite verificar uma outra aplicação destes sistemas, neste caso como *patch* adesivo para a pele, permitindo a prolongada libertação tópica de fármacos. Observou-se, assim, que todos os sistemas preparados podem ser aplicados para este fim uma vez que todos, sem excepção, apresentam valores que permitem a sua adesão à pele.

Finalmente, o estudo de libertação de fármaco propriamente dito apresentou resultados semelhantes aos observados para a libertação de água. Deste modo, os sistemas colocados a temperaturas superiores apresentaram libertações menos significativas de fármaco libertado do que os sistemas com características idênticas mas colocados a temperaturas inferiores. A libertação do fármaco ocorreu de forma mais acelerada no início, o que está relacionado com a gelificação de PNIPAAm, e mais lenta na segunda fase do estudo, devido à retenção, pelo mesmo motivo, de fármaco no interior.

Assim, se conclui que fazendo variar as condições de reacção, e consequentemente, a concentração final de PNIPAAm no hidrogel, é possível controlar a quantidade que se pretende libertar e, simultaneamente, a velocidade a que a mesma ocorre.

Dos resultados obtidos podemos então referir que todos os sistemas são passíveis de ser utilizados, sendo que, a nível da sua própria síntese os sistemas preparados por irradiação são os mais simples e rápidos de produzir. No entanto, considerando o equipamento necessário é expectável que estes não possam ser utilizados com tanta frequência como os outros.

Globalmente, podemos concluir que os sistemas de preparação por fotopolimerização são os mais versáteis, pois a facilidade do seu procedimento de preparação permite que sejam sintetizados no momento da sua aplicação e, o que é ainda mais importante, no local da mesma, conseguindo-se assim obter sistemas com as características mais adequadas às necessidades.

Em conclusão, diremos que este trabalho apresenta diversos resultados inovadores que permitem a sua utilização futura como base na síntese de novos sistemas termossensíveis de libertação controlada, com um amplo leque de aplicações.

O presente trabalho abre também portas para o estudo futuro da biocompatibilidade, quer *in vivo* quer *in vitro*, estudo esse que finalizará a caracterização destes compostos a nível biomédico.

Chamamos, todavia, a atenção para a importância de um outro estudo que passará pela utilização das mesmas técnicas mas com outros compostos também utilizados como base de sistemas de libertação, para desse modo se observarem os resultados então obtidos e compará-los com os que apresentámos neste trabalho.