

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MATERIAIS PARA ENGENHARIA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE  
POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA) CONTENDO SULFATO DE CONDROITINA E  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Charlene Aparecida Ribeiro

Itajubá, novembro de 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MATERIAIS PARA ENGENHARIA

Charlene Aparecida Ribeiro

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE  
POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA) CONTENDO SULFATO DE CONDROITINA E  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Materiais para Engenharia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências em Materiais para Engenharia.

Área de Concentração: Não Metais

Orientadora: Maria Elena Leyva

Novembro de 2016  
Itajubá



FOLHA DE APROVAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MATERIAIS PARA ENGENHARIA

Charlene Aparecida Ribeiro

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE  
POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA) CONTENDO SULFATO DE CONDRITINA E  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Tese aprovada por banca examinadora em 17 de novembro de 2016, conferindo ao autor o título de Doutora em Ciências em Materiais para Engenharia.

Banca Examinadora:  
Prof.<sup>a</sup> Maria Elena Leyva (Orientadora)  
Prof.<sup>a</sup> Mirta Mir Caraballo  
Prof. Antônio Gerson Bernardo da Cruz  
Prof.<sup>a</sup> Daniela Sachs  
Prof. Antônio Bombard

Itajubá  
2016

À minha filha Giovana, pelo imenso amor e sorrisos diários...

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelas bênçãos diárias.

À Prof.<sup>a</sup> Maria Elena pela dedicação, orientação e idealização deste trabalho e pela amizade conquistada.

À minha família, pelo amor, apoio e paciência.

Aos professores do curso de pós-graduação em Materiais pelos ensinamentos e contribuição na realização desta Tese.

Aos amigos: Lidiane, Michele, Glauber, Maria Fernanda, Alexandre, Lívia, Tessa, Priscila, Paula Cristina, Gisela, Juliana, Isabel, Lucimara, Vânia, Edna, Selma, pelo companheirismo e amizade.

Aos técnicos dos laboratórios Tarcísio, Thaianne, Aline, Rodrigo, Paulo, Marcos Cirilo pelas inúmeras colaborações, amizade e paciência.

Aos professores e funcionários do Laboratório de Alta Tensão (LAT).

A Capes e Fapemig pelo apoio financeiro.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

“O SENHOR é o meu pastor, nada me faltará. (...)  
Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte,  
não temeria mal algum, porque tu estás comigo;  
a tua vara e o teu cajado me consolam.”

Salmos 23

## RESUMO

RIBEIRO, C.A. *Síntese e caracterização de hidrogéis de Poli (N-isopropilacrilamida) contendo Sulfato de Condroitina e nanopartículas de prata para aplicações biomédicas*. 2016. Tese de Doutorado (Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2016.

A presente tese teve como objetivo a preparação de hidrogéis termosensíveis de Poli (N-isopropilacrilamida) - Pnipam contendo sulfato de condroitina (SC) e nanopartículas de prata (NPsAg) para uso como biomaterial de preenchimento de defeitos cartilaginosos. Inicialmente foi realizada a síntese eletroquímica, através da técnica de voltametria cíclica (VC), de hidrogéis termosensíveis de Pnipam contendo diferentes quantidades de agente reticulante, o N,N'-metilenobisacrilamida. Posteriormente, foi realizada a síntese verde, chamada síntese ecologicamente correta, de NPsAg utilizando SC como agente redutor e estabilizante. O complexo formado SC-NPsAg foi incorporado na matriz de Pnipam através de intumescimento dos hidrogéis de Pnipam nas correspondentes soluções aquosas do complexo, obtendo-se a formulação final Pnipam VC-SC-NPsAg. Os voltamogramas obtidos por VC mostraram que a polimerização é iniciada eletroquimicamente através da redução do iniciador, persulfato de amônio (APS), no eletrodo de trabalho. As caracterizações realizadas demonstram o comportamento das principais propriedades da Pnipam em relação a reticulação e temperatura. A temperatura de degradação Td e a temperatura de transição LCST não mostram variações significativas com o aumento da reticulação, ao contrário da temperatura de transição vítrea Tg. Os estudos de intumescimento foram realizados a duas temperaturas distintas, 23 e 37°C, de acordo com a aplicação pretendida. Os resultados obtidos foram melhor ajustados a uma cinética de segunda ordem. O grau de intumescimento varia conforme a temperatura, de acordo com as propriedades da Pnipam, e também conforme a força iônica da solução de intumescimento. O aumento da força iônica da solução diminui o grau de intumescimento. O alto grau de intumescimento nos hidrogéis favorece a biocompatibilidade, potencializando o possível uso como biomaterial. As análises reológicas mostraram alto valor de módulo elástico (1-10 kPa) para tensões até 10 Pa. As micrografias MEV mostram morfologia heterogênea da superfície, com regiões rugosas e compactas. A cinética da síntese verde de NPsAg com sulfato de condroitina foi estudada por UV-vis, através da Banda de Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS). As análises de FTIR confirmam a formação de um complexo através das fortes interações químicas entre a Ag e os grupos sulfatos e carboxílico do SC. Esta interação muda o perfil de degradação do SC, como mostra as análises de TGA e DSC. O MEV mostra a superfície homogênea do complexo, com distribuição homogênea da prata nanométrica através da matriz de SC. A formulação final, formada entre a Pnipam e o complexo SC-NPsAg (Pnipam-SC-NPsAg) mostra potencial uso como biomaterial, agregando as propriedades dos seus constituintes. Os estudos de liberação mostram que a 23°C ocorre liberação de cerca de 60% do complexo enquanto que a 37°C ocorre liberação de cerca de 37% do complexo incorporado nos 5 minutos iniciais.

**Palavras-chave:** hidrogéis, Pnipam, voltametria cíclica, sulfato de condroitina, nanopartículas de prata.

## ABSTRACT

*RIBEIRO, C. A. Synthesis and characterization of Poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels containing chondroitin sulfate and silver nanoparticles for biomedical applications. 2016. Thesis (Materials Engineering) - Federal University of Itajubá, Itajubá, 2016.*

*The aim of this Thesis was the preparation of thermosensitive Poly(N-isopropylacrylamide) (Pnipam) hydrogels containing chondroitin sulfate (CS) and silver nanoparticles (NPsAg) for being used as biomaterial to fill cartilage defects. Initially, was performed the electrochemical synthesis, by means of the cyclic voltammetry (CV) technique, of Pnipam thermosensitive hydrogels containing different amounts of crosslinking agent, N, N'-Methylenebisacrylamide. Subsequently, the green synthesis, called ecologically correct synthesis, of NPsAg was performed using CS as a reducing and stabilizing agent. The formed complex, CS-NPsAg, was incorporated into the Pnipam matrix by swelling the Pnipam hydrogels into the corresponding aqueous solutions of the complex, obtaining the final formulation Pnipam CV-CS-NPsAg. The voltammograms obtained by CV showed that the polymerization is initiated electrochemically by reducing the initiator, ammonium persulfate (APS), at the working electrode. The characterizations performed demonstrate the behavior of the main properties of Pnipam in relation to crosslinking and temperature. The degradation temperature  $T_d$  and the LCST transition temperature do not show significant differences with increasing crosslinking, unlike the glass transition temperature  $T_g$ . The swelling studies were performed at two different temperatures, 23 and 37°C, according to the intended application. The results were better adjusted to a second order kinetics. The degree of swelling varies according to the temperature, according to the properties of Pnipam, and also according to the ionic force of the swelling solution. The increase in the ionic strength of the solution decreases the degree of swelling. The high degree of swelling in the hydrogels favors the biocompatibility, potentializing the possible use as biomaterial. The rheological analysis showed high elastic modulus (1-10 kPa) for tensions up to 10 Pa. SEM micrographs show heterogeneous surface morphology with rough and compact regions. The kinetics of the green synthesis of NPsAg with chondroitin sulfate was studied by UV-vis, through the Surface Plasmon Resonance Band (SPR). FTIR analyzes confirm the formation of a complex through the strong chemical interactions between Ag and the sulfates and carboxylic groups of CS. This interaction changes the CS degradation profile, as shown by the TGA and DSC analyzes. The SEM shows the homogeneous surface of the complex, with homogeneous distribution of the nanometric silver through the CS matrix. The final formulation formed between Pnipam and CS-NPsAg complex (Pnipam-CS-NPsAg) shows potential use as a biomaterial, combining the properties of their constituents. The release studies show that 23 ° C is released about 60% of the complex whereas at 37 ° C is release about 37% of the incorporated complex in the first 5 minute.*

**Keywords:** hydrogels, Pnipam, cyclic voltammetry, chondroitin sulfate, silver nanoparticles.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Imagem ilustrativa do objetivo final deste trabalho. A formulação termosensível Pnipam VC-SC-NPsAg tem possível aplicação como biomaterial de implante de preenchimento de defeitos de cartilagem, por administração por via injetável. Adaptado de (MYERS, SGAGLIONE e GRANDE, 2013). .....	16
Figura 2: Classificação dos polímeros segundo a forma física: i) cadeias lineares em solução sofrem um colapso reversível depois de o estímulo externo ser aplicado; ii) géis reticulados covalentemente intumescem ou colapsam quando sofrem ação do estímulo; iii) cadeias adsorvidas ou superfícies revestidas pelos hidrogéis responsivos intumescem ou colapsam na superfície, onde o estímulo externo é aplicado Adaptado de (KUMAR, SRIVASTAVA e GALAEV, 2007).....	20
Figura 3: Representação do diagrama de fases para os sistemas UCST a) e LCST b) [Adaptado de (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001)]. .....	21
Figura 4: Série de Hofmeister. Adaptado de (ZHANG e CREMER, 2006) .....	29
Figura 5: Interações entre íons, moléculas de água e a Pnipam (Adaptado de (ZHANG e CREMER, 2006). .....	30
Figura 6: Representação da estrutura químicas dos derivados de Acrilamidas (Fonte: (SILVA, 2006)) .....	32
Figura 7: Representação das estruturas químicas a) monômero Nipam; b) polímero Pnipam. ....	33
Figura 8: Transição de fases LCST da Pnipam. A altas temperaturas, a água ligada à cadeia é expelida do polímero e o polímero reorienta-se para formar ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Adaptado de (ELLIOTT, 2011) e (MARQUES, 2012). Adaptado de (DIMITROV, TRZEBICKA, et al., 2007). .....	34
Figura 9: Esquema da engenharia de camada celular utilizando um disco de cultura com Pnipam graftizado [Adaptado de (COOPERSTEIN e CANAVAN, 2010)]. .....	36
Figura 10: Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro são inicialmente revestidas com metacrilato de 2-aminometila, para introdução de ligações C=C. Num segundo passo, os monômeros são copolimerizados na superfície das nanopartículas (Adaptado de (DEKA, QUARTA, et al., 2011) .....	37
Figura 11: Agregado Supramolecular de Proteoglicano de cartilagem (ELEOTÉRIO, 2011). ....	39
Figura 12: Estrutura da unidade repetitiva do Sulfato de Condroitina (PIAI, 2008).....	40
Figura 13: Imagem ilustrativa da cartilagem presente no joelho (REUMATÓIDE, 2016) .....	42

Figura 14: Imagem ilustrativa de articulação saudável e articulação danificada (SAÚDE, 2016). .....	43
Figura 15: Diagrama esquemático da aplicação do adesivo de SC e hidrogel. O adesivo é aplicado a superfície da cartilagem . Em seguida, a solução monomérica é aplicada, formando assim o hidrogel (WANG, VARGUESE, et al., 2007).....	45
Figura 16: Oscilação de plasmon das NPs metálicas em resposta a um campo eletromagnético, mostrando o deslocamento da nuvem de elétrons relativo ao núcleo [Fonte: (SANTOS, 2011)].	49
Figura 17: Modelos de dupla camada elétrica: a) modelo de Helmholtz; b) modelo de Gouye Chapman; c) modelo de Stern e d) modelo de Grahame. [Adaptado de (BRETT e BRETT, 1994)] .....	52
Figura 18: Forma de onda de excitação triangular para a voltametria cíclica (NECKEL, 2009).	54
Figura 19: Voltamograma cíclico representativo de um de um processo reversível: parâmetros importantes a serem observados [Adaptado de (BRETT e BRETT, 1994)] .....	54
Figura 20: Potenciostato/Galvanostato Omnimetra Instrumentos utilizado para polimerização e caracterização (Foto do autor). .....	60
Figura 21: Complexo SC-NPsAg após liofilização.....	63
Figura 22: Hidrogéis de Pnipam VC em processo de intumescimento com a solução de SC-NPsAg. .....	64
Figura 23: Determinação da LCST por medidas de transmitância; a) Pnipam a 20°C; b) Pnipam a 45°C, c) Equipamentos utilizados. Fotografias do autor. ....	69
Figura 24: Fotografia ilustrativa da montagem utilizada para determinação da temperatura de transição LCST por VC. ....	70
Figura 25: Representação do modelo de duas placas paralelas. Adaptado de (DE MOURA, 2014). .....	72
Figura 26: Pnipam obtido por Voltametria Cíclica na faixa de potencial de -0,3 a 0,8 V, com velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> . ....	75
Figura 27: Voltamograma de síntese da Pnipam na faixa de potencial de -0,3 a 0,8V, com velocidade de varredura de 10mV s <sup>-1</sup> . ....	76
Figura 28: Voltamograma do iniciador persulfato de amônio (APS), na faixa de potencial de -0,1 a -1,3 V, com velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> , utilizando prata como eletrodo de trabalho, Pt como contra-eletrodo e Ag/AgCl como eletrodo de referência.....	77

Figura 29: a) Pnipam obtida por VC na faixa de potencial de -0,1 a -1,3V, com velocidade de varredura de 10mV s <sup>-1</sup> , utilizando molde cilíndrico; b) Pnipam cortado em cilindros menores...	77
Figura 30: Voltamogramas de síntese dos hidrogéis a) Pnipam VC1, b) Pnipam VC2 e c) Pnipam VC3, na faixa de potencial de -0,1 a -1,3 V, com velocidade de varredura de 100 mV s <sup>-1</sup> , utilizando prata como eletrodo de trabalho, Pt como contra-eletrodo e Ag/AgCl como eletrodo de referência.	79
Figura 31: Produção eletroquímica de radicais livres e formação do hidrogel de Pnipam. Fonte: (THIPMONTA, 2013).	80
Figura 32: Espectro FTIR-ATR comparativo entre o monômero Nipam e a Pnipam VC1.	82
Figura 33: Espectro FTIR comparativo entre Nipam e Pnipam a) entre 1700 e 1400 cm <sup>-1</sup> ; b) entre 4000 e 2500 cm <sup>-1</sup> .	83
Figura 34: Espectro FTIR dos hidrogéis Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3.	84
Figura 35: Representação da estrutura química a) monômero Nipam; b) agente reticulante N,N'-metilenobisacrilamida.	85
Figura 36: Espectro FTIR dos hidrogéis a) de 1700 a 1580 cm <sup>-1</sup> , relativa a vibração da ligação HCN=O, em 1628 cm <sup>-1</sup> e b) de 900 a 860 cm <sup>-1</sup> , relativo à vibração da ligação (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH.	85
Figura 37: Curvas termogravimétricas (TG) dos hidrogéis Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3.	87
Figura 38: Curva DTG dos hidrogéis de Pnipam VC.	88
Figura 40: Curvas DSC dos hidrogéis de Pnipam sintetizados eletroquimicamente por Voltametria Cíclica.	90
Figura 41: Grau de intumescimento dos hidrogéis de Pnipam VC em função da temperatura.	93
Figura 42: Gráfico da transmitância em função da temperatura para os hidrogéis de Pnipam VC.	94
Figura 43: a) Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodos de Platina, em solução de K <sub>3</sub> [Fe (CN) <sub>6</sub> ] em KCL 0,1 mol L <sup>-1</sup> , de 0 a 0,6V, com velocidade de varredura de 0,1 V s <sup>-1</sup> . b) Curva Corrente de pico em função da temperatura.	96
Figura 44: Intumescimento em função do tempo para os hidrogéis a) Pnipam VC1; b) Pnipam VC2 e c) Pnipam VC3, a 23 °C.	100
Figura 45: Intumescimento em função do tempo par aos hidrogéis a) Pnipam VC1 b) Pnipam VC2 e c) Pnipam VC3, a 37°C.	107

Figura 46: Cinética de desintumescimento dos hidrogéis de Pnipam VC em a) Água Destilada, b) Solução NaCl 0,9% e c) PBS, a 45°C. ....	112
Figura 47: Variação do módulo elástico G' e de perda G'' em função da tensão de cisalhamento aplicada para os hidrogéis de Pnipam VC, a 20 °C, a 10 rad s <sup>-1</sup> . ....	115
Figura 48: Variação do módulo elástico G' e de perda G'' em função da temperatura para os hidrogéis de Pnipam VC, deformação de 0,01. ....	116
Figura 49: Imagem representativa da deformação sofrida pelo hidrogel quando aplicada força de compressão. ....	117
Figura 50: Viscosidade em função da temperatura obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC....	118
Figura 51: Micrografia MEV do hidrogel Pnipam VC1.....	119
Figura 52: Micrografia MEV do hidrogel Pnipam VC2.....	120
Figura 53: Micrografia MEV do hidrogel Pnipam VC3.....	121
Figura 54: Espectros de absorção no UV-Vis de NPsAg durante o processo de formação. ....	123
Figura 55: Variação da cor observada durante a formação das NPsAg; a) 10 min b) 300 min. .	124
Figura 56: Cinética de síntese do complexo SC-NPsAg, com destaque para os tempos iniciais de reação.....	125
Figura 57: Espectro FTIR do fármaco Sulfato de Condroitina. ....	127
Figura 58: Espectro FTIR comparativo entre o SC e o complexo SC-NPsAg formado. ....	128
Figura 59: Curva termogravimétrica TG do Sulfato de Condroitina. ....	129
Figura 60: Curva DTG obtida para o sulfato de condroitina.....	130
Figura 61: Curva termogravimétrica TG do complexo SC-NPsAg. ....	131
Figura 62: Curva DTG obtida para o complexo SC-NPsAg. ....	132
Figura 63: Curvas DSC do fármaco Sulfato de Condroitina (SC). ....	133
Figura 64: Curvas DSC do complexo formado SC-NPsAg. ....	134
Figura 65: Distribuição do tamanho de partículas do complexo SC-NPsAg. ....	135
Figura 66: Micrografia MEV do Sulfato de Condroitina .....	136
Figura 67: Micrografia MEV do complexo SC-NPsAg .....	137
Figura 68: Micrografia MEV do complexo SC-NPsAg, com ampliação de 3000X. ....	138
Figura 69: Mapeamento MEV-EDS de Ag depositada na superfície do complexo SC-NPsAg. ....	139
Figura 70: Espectro de EDS do complexo SC-NPsAg.....	140

Figura 71: Espectro FTIR-ATR comparativo entre a Pnipam VC, o complexo SC-NPsAg e a formulação final Pnipam VC-SC-NPsAg.....	141
Figura 72: Espectro FTIR-ATR das formulações Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg.....	142
Figura 73: Curvas termogravimétricas TG das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg.....	143
Figura 74: Curvas DTG obtidas para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg.....	145
Figura 75: Curvas DSC das formulações finais Pnipam VC-SC-NPsAg.....	146
Figura 76: Intumescimento em função do tempo para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23°C.....	147
Figura 77: Intumescimento em função do tempo para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C. ....	151
Figura 78: Curva de calibração linear (absorbância vs concentração $g L^{-1}$ ) do complexo SC-NPsAg) em água.....	154
Figura 79: Perfil de liberação de NPsAg a partir das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23°C. ....	155
Figura 80: Perfil de liberação de NPsAg a partir das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C. ....	157
Figura 81: Variação do módulo elástico $G'$ e do módulo de perda $G''$ em função da tensão aplicada para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 20°C. ....	160
Figura 82: Variação dos módulos elástico $G'$ e de perda $G''$ em função da temperatura para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, utilizando deformação de 0,01% e frequência angular de 10 rad/s. ....	160
Figura 83: Viscosidade em função da temperatura para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 20°C.....	162
Figura 84: Micrografia MEV para a formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg.....	163
Figura 85: Mapeamento MEV-EDS para a formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg. ....	164
Figura 86: Micrografia MEV para a formulação Pnipam VC2-SC-NPsAg.....	165
Figura 87: Mapeamento MEV-EDS para a formulação Pnipam VC2-SC-NPsAg. ....	166
Figura 88: Micrografia MEV para a formulação Pnipam VC3-SC-NPsAg.....	167
Figura 89: Mapeamento MEV-EDS para a formulação Pnipam VC3-SC-NPsAg. ....	168

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Volumes (em mL) das soluções utilizados na síntese de cada hidrogel de Pnipam VC 61	
Tabela 2: Valores da fração mássica dos polímeros e fração molar de reticulante. ....	62
Tabela 3: Diferenças entre o monômero Nipam e o agente reticulante MBAAm. ....	85
Tabela 4: Razão entre as áreas das bandas $1628\text{ cm}^{-1}$ (HNC=O) e $878\text{ cm}^{-1}$ $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ para os hidrogéis. ....	86
Tabela 5: Dados termogravimétricos da Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3. ....	87
Tabela 6: Temperatura de degradação dos hidrogéis sintetizados eletroquimicamente por Voltametria Cíclica. ....	89
Tabela 7: Valores da temperatura de transição LCST obtidos por intumescimento em função da temperatura. ....	93
Tabela 8: Valores da temperatura de transição LCST obtidos por medidas de transmitância. ....	95
Tabela 9: Valores da temperatura LCST obtidos por Voltametria Cíclica. ....	97
Tabela 10: Teor de água total presente nos hidrogéis de Pnipam VC em diferentes meios de intumescimento, a $23\text{ }^\circ\text{C}$ . ....	102
Tabela 11: Valores de $n$ , $k$ e $R^2$ obtidos pela regressão linear do Modelo de Fick para os hidrogéis Pnipam VC a $23\text{ }^\circ\text{C}$ . ....	103
Tabela 12: Parâmetros da cinética de 1ª ordem obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC, a $23\text{ }^\circ\text{C}$ . ....	104
Tabela 13: Parâmetros da cinética de 2ª ordem obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC, a $23\text{ }^\circ\text{C}$ . ....	105
Tabela 14: Teor de água total presente nos hidrogéis de Pnipam VC em diferentes meios de intumescimento, a $37\text{ }^\circ\text{C}$ . ....	108
Tabela 15: Valores de $n$ , $k$ e $R^2$ obtidos pela regressão linear do Modelo de Fick para os hidrogéis de Pnipam VC, a $37\text{ }^\circ\text{C}$ . ....	109
Tabela 16: Parâmetros da cinética de 1ª ordem obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC, a $37\text{ }^\circ\text{C}$ . ....	110
Tabela 17: Parâmetros da cinética de 2ª ordem obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC, a $37\text{ }^\circ\text{C}$ . ....	110
Tabela 18: Percentual de solução residual nos hidrogéis de Pnipam VC. ....	113

Tabela 19: Constantes de Desintumescimento obtidas para os hidrogéis de Pnipam VC, a 45°C. .....	113
Tabela 20: Valores dos módulos elástico $G'$ e de perda $G''$ obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC a 20, 37 e 40 °C. ....	116
Tabela 21: Dados termogravimétricos do sulfato de condroitina.....	129
Tabela 22: Dados termogravimétricos do complexo SC-NPsAg. ....	132
Tabela 23: Dados termogravimétricos das formulações finais Pnipam VC-SC-NPsAg.....	144
Tabela 24: Temperatura de degradação das formulações finais.....	144
Tabela 25: Teor de água total presente nas formulações Pnipam VC-SC-NPsAg,a 23°C.....	148
Tabela 26: Valores de n, k e $R^2$ obtidos pela regressão linear do modelo de Fick para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23 °C. ....	149
Tabela 27:Parâmetros da cinética de 1ª ordem obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23 °C. ....	150
Tabela 28: Parâmetros da cinética de 2ª ordem obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23 °C .....	150
Tabela 29: Valores de n, k e $R^2$ obtidos pela regressão linear do modelo de Fick para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C. ....	152
Tabela 30: Parâmetros da cinética de 1ª ordem obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C. ....	152
Tabela 31: Parâmetros da cinética de 2ª ordem obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C .....	153
Tabela 32: Valores de n, k e $R^2$ obtidos pela regressão linear do modelo de Fick para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23 °C. ....	156
Tabela 33: Valores de n, k e $R^2$ obtidos pela regressão linear do modelo de Fick para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C. ....	158
Tabela 34: Valores dos módulos elástico $G'$ e de perda $G''$ obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg a 20, 37 e 40°C.....	161

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**AAS** – Ácido acetilsalicílico

**AMPS** – Ácido 2-acrilamida-2-metilpropano sulfônico

**APS** – Persulfato de Amônio

**Da** – Daltons

**DMAAm** – Dimetilacrilamida

**DOXO** – Dexorubicina

**DRX** – Difração de raios x

**DSC** – *Differential scanning calorimetry* ou Calorimetria Exploratória Diferencial

**DTG** – *Derivative Thermogravimetric* ou Termogravimetria Diferencial

**EDS** – energy dispersive x-ray detector

**EWC** – *Equilibrium water content* ou teor de água total no equilíbrio

**FDA** – *Food and Drug Administration*

**FTIR** – Fourier Transform Infrared spectroscopy ou Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

**GAGs** – Glicosaminoglicanas

**HA** – ácido hialurônico

**HeNe** – laser de Hélio/Neon

**IPN** – Interpenetrante

**LCST** – *Lower Critical Solution Temperature*

**MAA** – Ácido metacrílico

**MBAAm** – N'N-metilenobisacrilamida

**MEC** – Matriz Extracelular

**MEV** – Microscopia eletrônica de varredura

**M<sub>v</sub>** – massa molar viscosimétrica média

**NaC** – Cloreto de Sódio

**Nipam** – N-isopropilacrilamida

**NPsAg** – nanopartículas de prata

**P(DEAAm)** – Poli (N,N-dietilacrilamida)

**PAA** – Poli (ácido acrílico)

**PAAm** – Poliacrilamida

**PEG** – Polietilenoglicol

**pHEMA** – Metacrilato de 2 hidroxietila

**Pnipam** – Poli (N-isopropilacrilamida)

**Pnipam-co-PAA** – copolímeros formados por Pnipam e Poli (ácido acrílico)

**PST** – *Pulsed Signal Therapy*

**RAFT** – *Reversible addition fragmentation chain transfer polymerization* ou Transferência reversível de cadeia por adição-fragmentação

**SC** – Sulfato de Condroitina

**SC-NPsAg** – complexo formado entre o SC e NPsAg

**TGA** – Thermogravimetric analysis ou Análise Termogravimétrica

**UCST** – *Upper Critical Solution Temperature*

**UV-Vis** – Ultravioleta visível

**VC** – Voltametria Cíclica

**VPTT** – Volume Phase Transition Temperature

# SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>18</b>
2.1 - HIDROGÉIS.....	18
2.1.1 - PROPRIEDADES DOS HIDROGÉIS - INTUMESCIMENTO E LIBERAÇÃO.....	22
2.1.2 - INTUMESCIMENTO E EFEITO HOFMEISTER .....	28
2.2 - HIDROGÉIS INJETÁVEIS .....	30
2.3 - POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA) – PNIPAM .....	32
2.4 - SULFATO DE CONDROITINA.....	38
2.5 - CARTILAGEM ARTICULAR .....	41
2.6 - NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NPsAg) .....	46
2.7 - ELETROQUÍMICA E VOLTAMETRIA CÍCLICA.....	50
<b>CAPÍTULO III – OBJETIVOS .....</b>	<b>58</b>
3.1 – OBJETIVO GERAL .....	58
3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	58
<b>CAPÍTULO IV - MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>60</b>
4.1 - MATERIAIS .....	60
4.2 - METODOLOGIA.....	61
4.2.1 – ELETROSSÍNTESE DO HIDROGEL PNIPAM VC .....	61
4.2.2 - SÍNTESE DO COMPLEXO SULFATO DE CONDROITINA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA (SC-NPsAg).....	62
4.2.3 – SÍNTESE DA FORMULAÇÃO PNIPAM VC– SULFATO DE CONDROITINA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA (PNIPAM VC-SC-NPsAg).....	63
4.3 - TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO.....	64
4.3.1 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR-ATR) .....	64
4.3.2 - ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-Vis) ....	65

4.3.3 - ANÁLISE TÉRMICA .....	66
4.3.4 - ESTUDO DE INTUMESCIMENTO .....	67
4.3.5 - ESTUDO DA CINÉTICA DE DESINTUMESCIMENTO .....	67
4.3.6 – DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO DE FASES LCST ..	68
4.3.6.1 - INTUMESCIMENTO EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA .....	68
4.3.6.2 - MEDIDAS DE TRANSMITÂNCIA .....	69
4.3.6.3 - MEDIDAS POR VOLTAMETRIA CÍCLICA .....	69
4.3.7 - ANÁLISE DO TAMANHO DE PARTÍCULAS .....	70
4.3.8 - ESTUDO DA LIBERAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NPsAg).....	70
4.3.9 - ENSAIOS REOLÓGICOS .....	71
4.3.10- MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	73
<b>CAPÍTULO V - RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>75</b>
5.1 – PNIPAM VC .....	75
5.1.1 - ELETROSSÍNTESE .....	75
5.1.2 - ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER – FTIR.....	81
5.1.3 - ANÁLISE TÉRMICA .....	86
5.1.3.1 - ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA) .....	86
5.1.3.2 - CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) .....	90
5.1.4 - DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO LCST .....	92
5.1.4.1 - ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA... 92	
5.1.4.2 - MEDIDAS DE TRANSMITÂNCIA .....	94
5.1.4.3 - MEDIDAS POR VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC).....	95
5.1.5 - ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO .....	97
5.1.5.1 – ESTUDO DE INTUMESCIMENTO A 23°C.....	98
5.1.5.1.1 - LEI DE FICK .....	103
5.1.5.1.2 - CINÉTICAS DE 1ª E 2ª ORDEM.....	104
5.1.5.2 - ESTUDO DE INTUMESCIMENTO A 37°C.....	106
5.1.5.2.1 - LEI DE FICK .....	108
5.1.5.2.2 - CINÉTICAS DE 1ª E 2ª ORDEM.....	109
5.1.6 - CINÉTICA DE DESINTUMESCIMENTO – 45°C.....	111

5.1.7 - ENSAIOS REOLÓGICOS .....	114
5.1.8 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – MEV .....	118
5.2 – SULFATO DE CONDROITINA E COMPLEXO SC-NPsAg. ....	122
5.2.1 - ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-Vis) .....	122
5.2.2 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER - FTIR.....	126
5.2.3 - ANÁLISE TÉRMICA .....	129
5.2.3.1 - ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA) .....	129
5.2.3.2 – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL - DSC.....	133
5.2.4 - DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULAS .....	135
5.2.5 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	136
5.3 – FORMULAÇÕES PNIPAM VC-SC-NPsAg.....	141
5.3.1 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER – FTIR. ....	141
5.3.2 - ANÁLISE TÉRMICA .....	143
5.3.2.1 - ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA) .....	143
5.3.2.2 – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL - DSC.....	146
5.3.3 - ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO .....	147
5.3.3.1 - ESTUDO DE INTUMESCIMENTO A 23°C.....	147
5.3.3.1.1 - LEI DE FICK .....	149
5.3.3.1.2 - CINÉTICA DE 1ª E 2ª ORDEM .....	149
5.3.3.2 - INTUMESCIMENTO A 37°C.....	150
5.3.3.2.1 - LEI DE FICK .....	152
5.3.3.2.2 - CINÉTICA DE 1ª E 2ª ORDEM. ....	152
5.3.4 – ESTUDO DE LIBERAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA.....	153
5.3.4.1 - LIBERAÇÃO DE NPsAg A 23 °C.....	155
5.3.4.2 – LIBERAÇÃO DE NPsAg A 37 °C .....	157
5.3.5 - ENSAIOS REOLÓGICOS .....	159
5.3.6 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	162

<b>VI – CONCLUSÕES .....</b>	<b>169</b>
<b>VII- TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>172</b>
<b>VIII - BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>173</b>

## PRODUÇÃO CIENTÍFICA

- 1- Charlene A. RIBEIRO; Maria E. LEYVA; Álvaro A. A. de QUEIROZ. *Síntese eletroiniciada e caracterização de hidrogéis termosensíveis baseados em Poli (N-isopropilacrilamida)*. 20° CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS – CBECIMat, Joinville - SC (2012).
- 2- Charlene A. RIBEIRO; Mateus COLI; Maria E. LEYVA. *Caracterização eletroquímica de hidrogéis eletroativos*. 12° CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS – CBPOL, FLORIANÓPOLIS - SC (2013)
- 3- Charlene A. RIBEIRO; Ana E. Costa de PAULA; Maria E. LEYVA. *Electroinitiated polymerization of 2-hydroethylmethacrylate*. XII ENCONTRO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA EM MATERIAIS – SBPMat, Campos do Jordão - SP (2013).
- 4- Charlene A. RIBEIRO; Mateus COLI; Maria E. LEYVA. *Electrochemical characterization of electroactive hybrid hydrogels*. XII ENCONTRO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA EM MATERIAIS – SBPMat, Campos do Jordão, SP (2013).
- 5- Charlene A. RIBEIRO; Mateus COLI; Maria E. LEYVA. *Caracterização eletroquímica de hidrogéis híbridos eletroativos*. VI ENCONTRO DA REDE MINEIRA DE QUÍMICA. Itajubá, MG (2013).
- 6- Charlene A. RIBEIRO; Maria E. LEYVA. *Eletrossíntese de poli (N-isopropilacrilamida) por voltametria cíclica*. 21° CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, Cuiabá – MT (2014).
- 7- Charlene Ap. RIBEIRO; Raphael FELCA; Maria E. LEYVA. *Eletrossíntese e caracterização de hidrogéis termosensíveis*. 13° CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS – CBPOL, Natal – RN (2015).
- 8- Charlene Ap. RIBEIRO; Raphael FELCA; Maria E. LEYVA. *Thermosensitive hydrogels of poly (N-isopropylacrylamide): electrosynthesis and characterization*. XIV ENCONTRO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA EM MATERIAIS, Rio de Janeiro – RJ (2015).
- 9-Charlene Ap. Ribeiro; Maria E. Leyva. **Hidrogéis injetáveis baseados em Poli(N-sopropilacrilamida) contendo Sulfato de Condroitina e Nanopartículas de Prata**. 22° Congresso Brasileiro de Engenharia de Ciência dos Materiais, Natal – RN (2016).

10- Charlene ap. Ribeiro; Maria E. Leyva. ***Preparação de hidrogéis termosensíveis de Poli(N-isopropilacrilamida) sintetizados eletroquimicamente por voltametria cíclica.*** 9º Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, Foz do Iguaçu- PR (2016)

11 – Ribeiro, C.Ap; Leyva, M. E.; de Queiroz, A.A.A.; Bressiani, A.H.; Bressiani, J.C.; Surnami, M. ***Electrochemical preparation and characterization of Pnipam-HAp scaffold for bone tissue engineering.*** Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications (Artigo aceito).

12- Charlene Ap. Ribeiro; Maria E. Leyva; Alvaro A.A. de Queiroz; Alexandre Flauzino Junior. ***Curativo termosensível com propriedades antimicrobianas.*** Depósito de Pedido de Patente de Invenção nº BR 10 2016 029299-9. (2016).

## CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

---

A pesquisa científica deve ter por objetivo principal o desenvolvimento de meios e produtos que possam proporcionar a melhora da qualidade de vida de todos. Assim, biomateriais são extensamente utilizados na busca de tratamentos mais rápidos e eficazes das enfermidades do corpo humano, aumentando conseqüentemente a expectativa de vida. Um biomaterial é uma substância ou combinação de substâncias que são capazes de substituir, tratar ou aumentar tecidos, órgãos ou funções do corpo, podendo ser implantados por determinado tempo ou permanentemente (BRANT, 2008).

Os hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais capazes de reter/absorver quantidades significativas de água em sua estrutura, chegando a absorver centenas de vezes a massa do polímero seco (LIN e METTERS, 2006), (KOPECEK e YANG, 2007). Por suas propriedades de alta capacidade de absorção de água e capacidade de troca de fluidos com os organismos, mimetizando os tecidos humanos, é a classe polimérica mais pesquisada e utilizada como biomateriais (NAIR e LAURENCIN, 2006).

A Poli(N-isopropilacrilamida) (Pnipam) é um polímero termosensível, respondendo a estímulos de variação de temperatura. Possui transição de fases em temperaturas próximas de 32°C do tipo LCST (*Lower Critical Solution Temperature*). Abaixo desta temperatura as moléculas de água formam ligações de hidrogênio entre os grupos hidrofílicos da rede polimérica, elevando assim o grau de expansão. Acima da LCST, as interações entre partes hidrofóbicas ficam mais fortes e as ligações de hidrogênio enfraquecem, levando a contração do gel. É um polímero com grandes aplicações na composição de dispositivos de liberação de fármacos e de biocompósitos, assim como em processos de separação, imobilização de enzimas e proteínas, sensores biológicos, músculos artificiais, entre outras (DEKA, QUARTA, *et al.*, 2011). A Pnipam tem potencial aplicação como matriz polimérica para uso como formulações injetáveis, visto que solidifica *in situ* à temperatura corporal.

A técnica de Voltametria Cíclica (VC) é uma técnica eletroanalítica importante e amplamente utilizada no estudo de reações redox e no acompanhamento de reações. A eletrossíntese por VC tem se tornado um caminho na produção de hidrogéis visto que elimina um

dos reagentes utilizados como par-redox de iniciadores da polimerização. A polimerização por esta técnica é desencadeada pela eletrólise do iniciador no cátodo.

O Sulfato de Condroitina (SC) é um polissacarídeo encontrado na cartilagem e tecidos conectivos do corpo, que proporciona resistência à compressão, regula o conteúdo de água no tecido e possui ainda características como alta absorção de água, multifuncionalidade e biodegradabilidade (OPREA, CIOLACU, *et al.*, 2010). É considerado um bom fármaco para o tratamento de Osteoartrite, reduzindo a dor e estimulando a regeneração da cartilagem (BIANCHERA, SALOMI, *et al.*, 2014).

Nanopartículas de prata (NPsAg) são extensamente utilizadas na área biomédica devido às suas conhecidas propriedades antibacterianas, sendo aplicadas no tratamento de infecções em queimados, feridas abertas e úlceras crônicas. A síntese verde de nanopartículas de prata tem sido empregada para obtenção de um material mais biocompatível, com baixa toxicidade. A síntese verde utiliza sistemas biológicos, dentre os quais o sulfato de condroitina, como agentes redutores e/ou estabilizadores.

Segundo Elaine Cruz, o Brasil tem alto índice de desempregados entre pacientes com artrite reumatoide, cerca de seis em cada dez pacientes. De acordo com pesquisa realizada por Ricardo Machado Xavier, professor titular de reumatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em quatro países (Argentina, Brasil, Colômbia e México) a doença interfere significativamente na capacidade profissional e na qualidade de vida das pessoas. O estudo demonstrou, ainda, que no Brasil a doença atinge cerca de 2 milhões de pessoas e que 83% dos pacientes sentem muita dor e desconforto (CRUZ, 2015). Dados de 2012 mostram que o governo gasta, em média, 25 mil com cada paciente que utiliza medicamentos para o tratamento de artrite reumatoide (LABOISSIERE, 2012).

O presente trabalho tem como objetivo principal a eletrossíntese de hidrogéis termosensíveis baseados em Poli (N-isopropilacrilamida) (Pnipam) através da técnica de Voltametria Cíclica (VC), com diferentes quantidades de agente reticulante. Posteriormente, será realizada a síntese verde de nanopartículas de prata utilizando o SC como agente redutor e estabilizador, formando o complexo SC-NPsAg. O complexo SC-NPsAg será então inserido no hidrogel de Pnipam por absorção de solução aquosa contendo o mesmo. A formulação final, o hidrogel Pnipam VC-SC-NPsAg, tem potencial aplicação como biomaterial de implante de preenchimento de defeitos cartilaginosos, para administração por via injetável (Figura 1).

Pretende-se com este sistema que, após injeção, seja possível formar no organismo, em curto intervalo de tempo, estruturas estáveis capazes de realizar o preenchimento de defeitos cartilagosos. As propriedades dos hidrogéis de Pnipam, do complexo SC-NPsAg e das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg serão estudadas através das técnicas de caracterização físico-químicas. Deste modo, espera-se que cada material, isoladamente ou sinergicamente, contribua com uma propriedade ao produto final. Vislumbra-se a formação de um hidrogel termosensível, a matriz polimérica de Pnipam, ao qual será agregado o complexo SC-NPsAg, que poderá proporcionar uma fonte de regeneração, crescimento e diminuição da dor através do SC, além do controle antimicrobiano através da liberação de NPsAg.

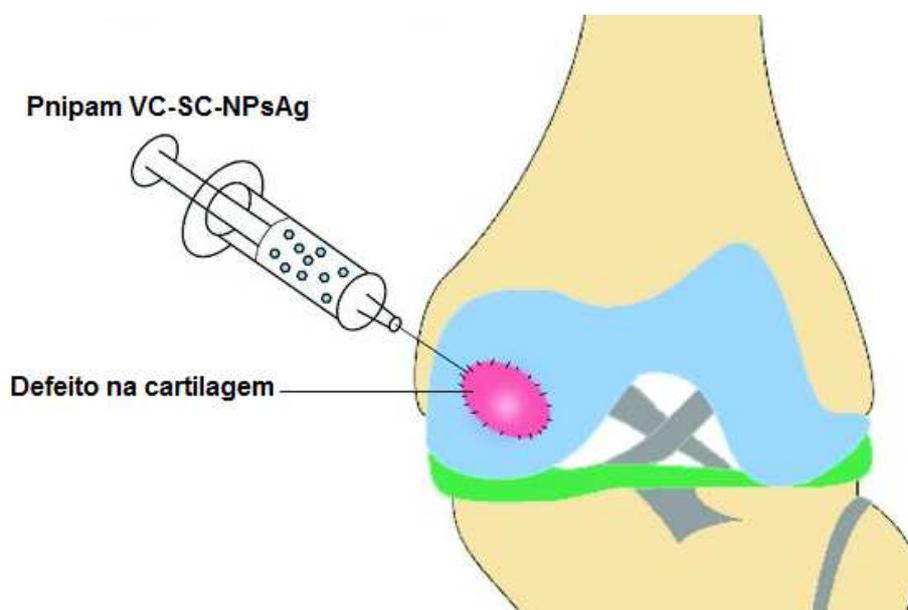


Figura 1: Imagem ilustrativa do objetivo final deste trabalho. A formulação termosensível Pnipam VC-SC-NPsAg tem possível aplicação como biomaterial de implante de preenchimento de defeitos de cartilagem, por administração por via injetável. Adaptado de (MYERS, SGAGLIONE e GRANDE, 2013).

Este trabalho está estruturado da forma como segue. O segundo capítulo apresenta a revisão bibliográfica, fundamentando o trabalho ao abordar os principais temas acerca deste: hidrogéis e suas propriedades, hidrogéis injetáveis, Pnipam, Sulfato de Condroitina, cartilagem articular, nanopartículas de Prata e por fim, eletroquímica e a técnica de voltametria cíclica. O capítulo 3 apresenta os objetivos gerais e específicos deste trabalho. O capítulo 4 descreve os materiais, métodos e técnicas de caracterização utilizados no desenvolvimento do trabalho proposto.

Resultados e discussões são descritos no capítulo 5. No capítulo 6 são apresentadas as conclusões obtidas e no capítulo 7 são propostos trabalhos futuros. Por fim as referências bibliográficas utilizadas neste trabalho são apresentadas no capítulo 8.

## CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

### 2.1 - HIDROGÉIS

A síntese do Polimetacrilato de 2-hidroxietila, pHEMA, por Wichterle e Lim em 1954 foi considerada como o início da pesquisa em hidrogéis sintéticos (LIN e METTERS, 2006) (PAL, BANTHIA e MAJUMDAR, 2009). Desde então, foram feitos significativos avanços na pesquisa e utilização dos hidrogéis.

Hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais, hidrofílicas, capazes de reter grandes quantidades de água ou fluidos biológicos em sua estrutura, caracterizados por uma consistência macia e borrachosa, similar aos tecidos vivos (CHUNSHENG, HUAYU, *et al.*, 2009) (PAL, BANTHIA e MAJUMDAR, 2009).

Os hidrogéis podem ser classificados de acordo com as interações que formam a estrutura tridimensional. Nos hidrogéis físicos ou pseudogéis, as cadeias poliméricas estão unidas por interações não covalentes, facilmente desfeitas (BRANT, 2008). Variações nas condições ambientais como pH, temperatura, força iônica dentre outros podem fazer os hidrogéis físicos desintegrar-se (ROSIK e YOSHII, 1999). Já nos hidrogéis químicos ou ditos permanentes, a estrutura tridimensional é coesa por causa das ligações covalentes entre as cadeias, podendo ser degradadas apenas por reações químicas ou processos mecânicos (BRANT, 2008).

Os hidrogéis têm sido utilizados nas áreas biomédicas em sistemas de liberação controlada de princípios ativos, substratos para o cultivo de células, lentes de contato, implantes, engenharia de tecidos, revestimentos, dentre tantos outros (MEID, FRIEDRICH, *et al.*, 2011). Aplicações de hidrogéis como membranas têm aumentado muito nos últimos anos, pois as características do hidrogel, como capacidade de conter grande quantidade de água e alta porosidade possibilitam a difusão seletiva de solutos através da membrana (CAMPESE, GUILHERME, *et al.*, 2006).

Hidrogéis também foram usados como substrato para crescimento celular, permitindo a difusão e liberação de nutrientes e fatores de crescimento (COOPERSTEIN e CANAVAN, 2010). Também podem ser usados no reparo e regeneração de tecidos e órgãos, mimetizando tecidos vivos (GALPERIN, LONG e RATNER, 2010).

As propriedades físicas dos hidrogéis permitem seu uso em próteses de tecidos moles. Hidrogéis de alginato e colágeno têm sido empregados na reconstrução do tecido cartilaginoso e hidrogéis de pHEMA foram utilizados em próteses de seios (SÁEZ, HERNÁEZ e ANGULO, 2003).

Hidrogéis de Pnipam são usados para separação de células mamárias, normalmente cultivadas em substratos sólidos hidrofóbicos e separados do substrato pela ação de enzimas, o que pode causar danos às células. Superfícies graftizadas com Pnipam são hidrofóbicas a 37°C e assim as células mamárias podem crescer neste substrato. A diminuição da temperatura resulta na transição de fases do Pnipam e as células são facilmente liberadas do substrato (KUMAR, SRIVASTAVA e GALAEV, 2007).

Hidrogéis inteligentes ou *smart hidrogels* ou estímulo-responsivos são aqueles capazes de variar significativamente seu tamanho/dimensões, solubilidade ou grau de associação intermolecular em resposta à pequenas alterações de determinados parâmetros ambientais (ROY, CAMBRE e SUMERLIN, 2010). Esses estímulos externos podem ser temperatura, pH, força iônica, presença de produtos químicos metabólicos, adição de cargas iônicas, formação de complexos policátion-poliânion, campo elétrico e magnético, luz ou radiação (KUMAR, SRIVASTAVA e GALAEV, 2007). Cita-se Katchasly como sendo o primeiro a sintetizar hidrogéis sensíveis em 1941, preparados por reticulação de um polieletrólito solúvel que respondia a variações de pH, temperatura e força iônica (ESCOBAR, GARCÍA, *et al.*, 2003).

A singularidade desses materiais está não apenas nas variações macroscópicas rápidas, mas também no fato de que essas variações são reversíveis. A resposta pode ser dada como variação na forma, características de superfície, transição sol-gel e outros. A Figura 2 mostra a classificação dos polímeros segundo a forma física, cadeias lineares, géis reticulados e cadeias adsorvidas ou superfícies revestidas pelos hidrogéis responsivos e a variação da forma conforme estímulo. Hidrogéis responsivos têm inúmeras aplicações, sendo a maioria delas focada em demandas biológicas e terapêuticas (DOU, HAN, *et al.*, 2012), (DRAGAN, 2014).

A combinação de diferentes polímeros pode resultar em materiais que respondam independente ou simultaneamente a diferentes estímulos. Zhou e colaboradores sintetizaram interfaces estáveis inteligentes baseadas em Pnipam, Poli (ácido acrílico) (PAA) e copolímeros de Pnipam-co-PAA, sendo estes sensíveis à temperatura, força iônica e pH (ZHOU, WANG, *et al.*, 2006).

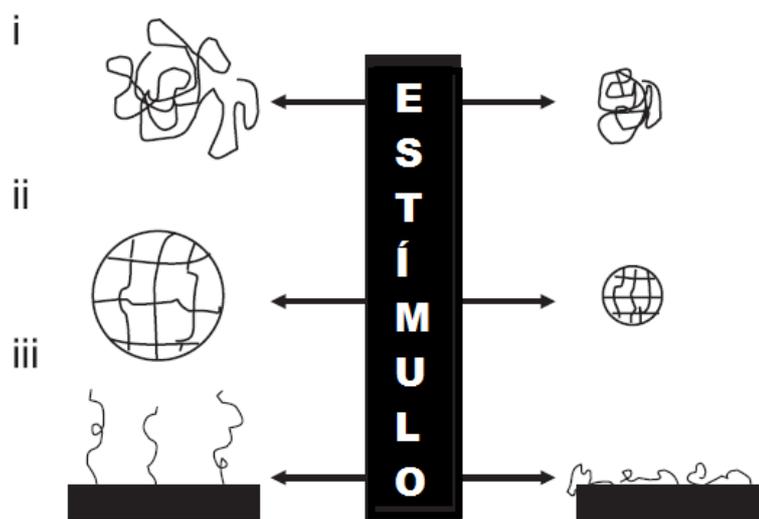


Figura 2: Classificação dos polímeros segundo a forma física: i) cadeias lineares em solução sofrem um colapso reversível depois de o estímulo externo ser aplicado; ii) géis reticulados covalentemente intumescem ou colapsam quando sofrem ação do estímulo; iii) cadeias adsorvidas ou superfícies revestidas pelos hidrogéis responsivos intumescem ou colapsam na superfície, onde o estímulo externo é aplicado Adaptado de (KUMAR, SRIVASTAVA e GALAEV, 2007).

Hidrogéis termosensíveis são os que exibem reversíveis variações na conformação em resposta a pequenos estímulos térmicos (ALLI e HAZER, 2008) (LU, SUN e GU, 2014). A temperatura é um fator importante para a solubilidade de um polímero, podendo melhorar ou piorar com a variação da temperatura.

Polímeros termosensíveis poder ter dois comportamentos diferentes em relação à temperatura, *upper* ou *lower critical solution temperature* (UCST ou LCST, respectivamente), o que depende de variações entrópicas a comportamentos de fase associados às características estruturais (VIEIRA, 2006), (ZOPPE, HABIBI, *et al.*, 2010). A Figura 3 exhibe a representação do diagrama de fases para um sistema binário polímero-solvente apresentando UCST ou LCST.

A UCST, *Upper Critical Solution Temperature*, ou Temperatura de Solução Crítica Superior (Temperatura Consoluta Superior) é característica da maioria dos materiais e soluções poliméricas. Nestes sistemas a solubilidade aumenta com o aumento da temperatura. Acima da UCST solvente e soluto são miscíveis e abaixo da UCST o sistema exhibe transição de fases e o soluto precipita. Ocorre, portanto, uma dependência positiva em relação à temperatura. Exemplos de soluções poliméricas com comportamento UCST são celulose/tetracloroetano, poliestireno/ciclohexano e o poliisobutileno/benzeno (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001).

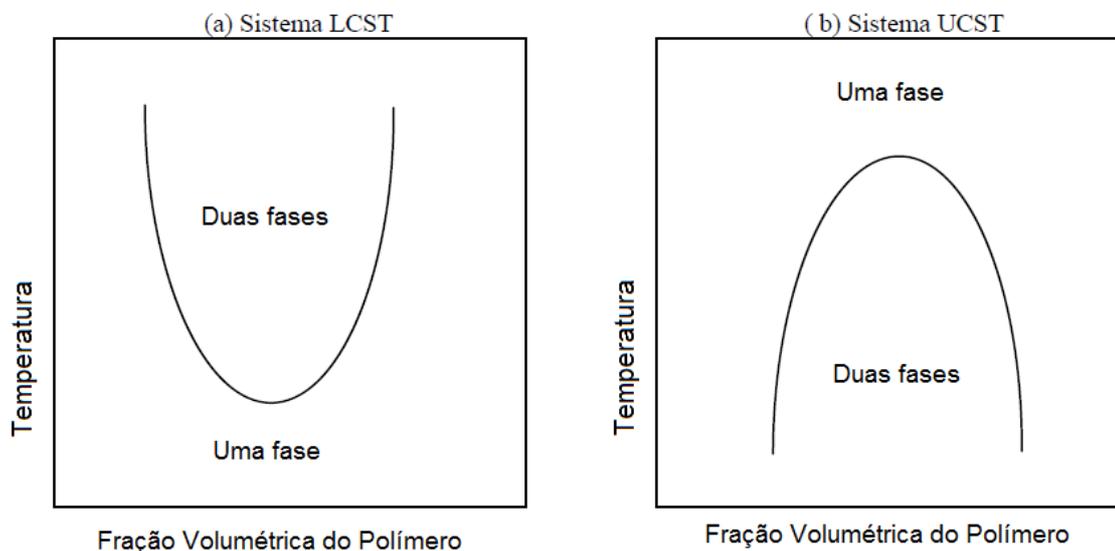


Figura 3: Representação do diagrama de fases para os sistemas UCST a) e LCST b) [Adaptado de (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001)].

Hidrogéis com comportamento LCST, *Lower Critical Solution Temperature* ou Temperatura de Solução Crítica Inferior (Temperatura Consoluta Inferior), como a PnIPam e o Poli (N,N-dietilacrilamida), P(DEAAM), reduzem seu volume com o aumento da temperatura (SOUSA, 2009). Para temperaturas inferiores a LCST o polímero é solúvel em fase aquosa e apresenta cadeia estendida e rodeada por moléculas de água. As ligações de hidrogênio formadas entre os grupos hidrofílicos da rede polimérica e as moléculas de água são dominantes, elevando assim o grau de expansão. Para temperaturas maiores que a temperatura de transição de fases, soluto e solvente são imiscíveis, ocorrendo separação de fases. Neste caso, as interações entre partes hidrofóbicas ficam mais fortes e as ligações de hidrogênio enfraquecem, levando à contração do gel (DIMITROV, TRZEBICKA, *et al.*, 2007).

Termodinamicamente, abaixo da LCST a entalpia, devida principalmente às ligações entre os grupos polares do polímero e as moléculas de água, leva à total dissolução do polímero. Acima da LCST, domina a entropia, devido às interações hidrofóbicas, resultando na gelificação do polímero e na formação de fases distintas, ocorrendo também forte contribuição entálpica resultante da perda de ligações de hidrogênio da própria água (MOURA, 2005), (VIEIRA, 2006), (ALMEIDA, 2010).

A temperatura de transição pode ser modificada por copolimerização, adição de sais ou surfactantes. Aumentando a hidrofobicidade da rede consegue-se uma diminuição da LCST, enquanto um aumento na hidrofiliicidade ocasiona um aumento da LCST (EECKMAN, AMIGHI e MOES, 2001), (EECKMAN, MOES e AMIGHI, 2004), (ALLI e HAZER, 2008).

Hidrogéis de Pnipam foram modificados com óleo de soja e/ou Polipropileno glicol (PPG) por Alli e Hazer. Estudos de intumescimento em função da temperatura foram utilizados para determinar a temperatura de transição de fases LCST dos hidrogéis de Pnipam modificados. Encontrou-se que os hidrogéis modificados tiveram a LCST reduzida de 32°C para 27°C (ALLI e HAZER, 2008).

Já Molina, Rivarola e Barbero estudaram o efeito da copolimerização de Nipam com 2-acrilamida-2-metil-propano ácido sulfônico (AMPS). Observaram que a temperatura de transição desse copolímero em pH 4,0, foi de 38,8°C, fato atribuído à presença de grupos  $-SO_3H$  do AMPS, que aumentam a hidrofiliicidade do material (MOLINA, RIVAROLA e BARBERO, 2011).

### **2.1.1 - PROPRIEDADES DOS HIDROGÉIS - INTUMESCIMENTO E LIBERAÇÃO**

Quando um hidrogel seco é imerso em água, as moléculas de água entram na rede e hidratam os grupos polares mais hidrofílicos. Como resultado, as moléculas de água vão ocupando espaço e assim a rede inicia sua expansão, permitindo por sua vez que mais moléculas de água entrem. A elasticidade da rede contrabalança o seu alongamento, evitando a destruição da mesma (HOFFMAN, 2002), (REIS, 2007), (GALPERIN, LONG e RATNER, 2010), (REIS, 2007).

O grau de expansão dos hidrogéis pode ser afetado por fatores como reticulação e balanço hidrofóbico/hidrofílico. Hidrogéis com alta densidade de ligações cruzadas são mais rígidos e expandem menos quando comparados aos mesmos com baixa densidade de ligações cruzadas. As reticulações impedem a mobilidade da cadeia polimérica e, portanto, diminuem o grau de expansão. A estrutura química também afeta o grau de expansão, visto que hidrogéis com maiores quantidades de grupos hidrofílicos possuem maior grau de expansão que os que possuem maiores quantidades de grupos hidrofóbicos (SOUSA, 2009), (GANJI e VASHEGHANI-FARAHANI, 2009).

O intumescimento pode ser descrito em função do aumento da massa, volume ou comprimento. O grau de intumescimento no tempo,  $I_t$ , é dado pela Equação 1:

$$I_t(\%) = \frac{(M_t - M_o)}{M_o} * 100 \quad (1)$$

onde,  $M_t$  é a massa do hidrogel em determinado tempo e  $M_o$  a massa inicial do hidrogel.

O teor de água total no equilíbrio, do inglês *equilibrium water content* – EWC, no hidrogel é dado pela Equação 2:

$$EWC = \frac{M_e - M_o}{M_e} \quad (2)$$

onde  $M_e$  representa a massa do hidrogel intumescido no equilíbrio.

O processo de difusão caracteriza-se como a transferência de massa de uma substância através do material por diferença de potencial químico ou concentração (ANTONIO, COLLA, *et al.*, 2014).

O primeiro a quantificar o processo de difusão foi Adolf Fick, em 1855. A Lei de Fick demonstra que o fluxo difusivo ( $J$ ) de um soluto é definido como a quantidade de soluto que passa através de um plano de referência por unidade de tempo e por unidade de área normal na direção do fluxo. Para um estado estacionário, ou seja, independente do tempo,  $J$  pode ser determinado pela Equação 3 (SEEFELDT, 2014):

$$J = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (3)$$

onde  $D$  é o coeficiente de difusão do soluto no meio,  $C$  é a concentração e  $x$  é a distância. Dessa forma,  $\partial C/\partial x$  é a força motriz para que o processo de difusão ocorra espontaneamente. O coeficiente de difusão  $D$  representa a facilidade para que essa difusão ocorra e depende do soluto em um determinado meio. O sinal negativo surge porque a difusão ocorre na direção oposta ao do

aumento da concentração (MANADAS, PINA e VEIGA, 2002) (GANJI e VASHEGHANI-FARAHANI, 2009).

Para os casos em que a difusão depende do tempo usa-se a segunda Lei de Fick, definida pela Equação 4 (SILVA, 2006):

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial(D \frac{\partial C}{\partial x})}{\partial x} \quad (4)$$

A matemática que descreve a difusão em polímeros é baseado nesta equação e dada pela cinética de sorção ( $\eta$ ) que corresponde ao ganho inicial de massa do soluto pela amostra polimérica (RITGER e PEPPAS, 1987) (CUGGINO, STRUMIA e IGARZABAL, 2010), dado pela Equação 5:

$$\frac{M_t}{M_e} = kt^n \quad (5)$$

Ou, tomando o logaritmo natural:

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_e}\right) = \ln k + n * \ln t \quad (6)$$

onde  $M_t$  e  $M_e$  representam as quantidades de solvente absorvidas pelo hidrogel no tempo e no equilíbrio, respectivamente,  $k$  é uma constante de proporcionalidade característica da rede polimérica, relativa à estrutura da rede e  $n$  é o expoente difusional, que determina o tipo de difusão do solvente. Esta equação é geralmente utilizada para interpretar e descrever processos, de liberação ou intumescimento, em que o mecanismo não é bem conhecido ou é uma combinação dos dois processos independentes, uma devido ao transporte fickiano e outro devido ao processo de intumescimento e relaxamento do hidrogel (LOPES, LOBO e COSTA, 2005).

A difusão em amostras poliméricas cilíndricas que sofrem expansão pode ser classificada da seguinte forma (COELHO, 2007) (GANJI e VASHEGHANI-FARAHANI, 2009), (SALOME, GODSWILL e IKECHUKWU, 2013) (RECIFE, 2013):

- ✓ Fickiana ou Caso I: a taxa de difusão é muito inferior ao tempo de relaxação da cadeia polimérica, neste caso  $n=0,5$ . O tempo de relaxação refere-se ao tempo que a cadeia leva para acomodar-se, ou seja, entrar em equilíbrio com o solvente ou soluto. Isto é, o relaxamento das cadeias é muito mais rápido que a difusão do solvente;
- ✓ Caso II: a difusão é muito mais rápida se comparada com o processo de relaxação das cadeias, neste caso  $n \geq 1$ ;
- ✓ Difusão anômala ou não-Fickiana: ocorre quando os tempos de difusão e a taxa de relaxação das cadeias são comparáveis, neste caso  $n$  está entre 0,5 e 1.

A Equação de Fick aplica-se aos estágios iniciais do intumescimento, até valores de fração de intumescimento menores que 0,60 (ESCOBAR, GARCÍA, *et al.*, 2003).

Considerando que hidrogéis absorvem grandes quantidades de água, pode-se inferir que a espessura da amostra não permanece constante e o comportamento Fickiano não é aplicável a todos os estágios de intumescimento, ou seja, até o equilíbrio ser atingido.

Existem mais de 25 modelos cinéticos relatados na literatura que dizem prever o comportamento cinético durante os processos de absorção. Dentre os modelos mais comumente utilizados destacam-se os modelos de primeira e segunda-ordem.

O modelo de primeira-ordem ou modelo de Lagergren, desenvolvido em 1898, é o mais utilizado, sendo expresso pela equação 7 (LI e TANAKA, 1990), (ZHAO, LI, *et al.*, 2008) (CARONI, 2009):

$$r_i = \frac{dM_t}{dt} = k(M_e - M_t) \quad (7)$$

onde  $k$  é uma constante de proporcionalidade. A integração desta equação permite obter a seguinte equação:

$$\ln \left( 1 - \frac{M_t}{M_e} \right) = -kt \quad (8)$$

Outro modelo cinético extensamente utilizado é o modelo de segunda-ordem ou modelo de Ho, desenvolvido em 1995, e expresso pela equação 10:

$$\frac{dM(t)}{dt} = k_2[M_E - M_t]^2 \quad (9)$$

E integrando:

$$\frac{t}{M_t} = \frac{1}{K_\infty} + \frac{t}{M_e} \quad (10)$$

sendo

$$K_\infty = kM_e^2 \quad (11)$$

onde o parâmetro  $1/K_\infty$  corresponde a taxa de intumescimento inicial do hidrogel,  $K_\infty$  é a constante aparente de velocidade do intumescimento no equilíbrio (KATIME, KATIME e KATIME, 2005) (KATIME e MENDIZÁBAL, 2010).

Sistemas de liberação de fármaco ou *drug delivery system* são sistemas de administração desenvolvidos para prolongar o tempo de liberação do fármaco no organismo, sustentar sua concentração plasmática e controlar a localização temporal e espacial das moléculas in vivo, por meio da aplicação de princípios biológicos e físico-químicos (VILLANOVA, ORÉFICE e CUNHA, 2010).

O uso de hidrogéis responsivos permite a liberação controlada através da manipulação das condições ambientais. Hidrogéis termosensíveis, como a Pnipam, têm sido utilizados em liberação de fármacos. Bulmus e seu grupo de pesquisa utilizaram a Pnipam para liberação controlada de Estreptavidina, uma proteína que se associa à biotina, também conhecida como vitamina B8. Abaixo de 32°C, o hidrogel está numa conformação completamente estendida, devido às interações com a água e isso impede a associação da biotina com a Estreptavidina. Acima da temperatura de transição, 32°C, o polímero colapsa e não interfere nos sítios de ligação.

O carregamento de um fármaco ou qualquer princípio ativo dentro da matriz polimérica pode ser feito basicamente através de duas formas: polimerização na presença do fármaco ou imersão do hidrogel em solução do fármaco. Em geral, a segunda forma é mais utilizada, visto que a polimerização pode afetar as características de liberação, podendo ocorrer reações entre o monômero e o fármaco e a quantidade final de fármaco adsorvido pelo polímero pode ser difícil de ser controlada (REIS, 2007). As propriedades de ligação do fármaco são importantes quando se pretende controlar a liberação do mesmo, além de propriedades físico-químicas como tamanho do fármaco e solubilidade. A natureza química do fármaco influencia no intumescimento e na cinética de liberação (COUGHLAN e CORRIGAN, 2006)

A liberação de fármacos ou determinado princípio ativo ou agente antimicrobiano pode ser controlada por difusão, intumescimento ou por degradação da rede do hidrogel (SILVA, 2006), (REIS, 2007). A liberação controlada por difusão envolve processos simultâneos de absorção de solvente e desorção do fármaco através do intumescimento da rede polimérica. O fármaco pode estar envolvido em membranas poliméricas que controlam a difusão ou estar distribuído uniformemente na rede polimérica (sistemas monolíticos) (PEPPAS e LANGER, 2003). A difusão obedece a equação semi-empírica dada pela Lei de Fick (Equação 5), discutida anteriormente.

Em sistemas controlados por intumescimento, a taxa de liberação é controlada pela razão de penetração de água na rede polimérica. Quando o hidrogel é imerso em solução, a água entra, aumentando o volume do hidrogel e forçando o agente ativo/fármaco a sair.

Já a liberação por degradação da rede ocorre por rompimento das ligações entre o fármaco e a rede polimérica, por degradação da membrana bioerosiva que envolve o fármaco ou por degradação do polímero contendo o fármaco.

Em sistemas de liberação de fármaco, materiais com estruturas porosas são preferidos às estruturas não porosas, visto que os poros podem fornecer espaços não somente para o aprisionamento do fármaco, mas também canais para sua liberação (ZHU, CHEN, *et al.*, 2011).

Coughlan e Corrigan estudaram a aplicação de hidrogéis de Pnipam para liberação controlada de fármacos e relataram que a liberação do fármaco é controlada principalmente pela rede polimérica (COUGHLAN e CORRIGAN, 2006). Fábio Silva desenvolveu hidrogéis de Pnipam e copolímeros de Pnipam com ácido metacrílico (Pnipam-co-MAA) para liberação de insulina e atenolol. Verificaram que nestes sistemas não foi possível incorporar quantidades significativas de insulina, enquanto que, com o aumento da quantidade de ácido metacrílico houve

o aumento da quantidade de atenolol incorporado. A liberação do fármaco ocorre segundo difusão do tipo II, controlado pela relaxação das cadeias, permitindo a difusão rápida para o meio (SILVA, 2006).

Reis desenvolveu hidrogéis formados pela copolimerização de goma arábica modificada (Gam) com dimetilacrilamida (DMAAm) e ácido metacrílico (MAA), que demonstraram ser potenciais dispositivos para liberação oral de diclofenaco de potássio (REIS, 2007). Hidrogéis de poliacrilamida (PAAm) foram carregados com ácido salicílico (AAS) e o estudos de liberação do fármaco a partir destes hidrogéis mostrou ser controlado por mecanismos de difusão Fickiana (NIAMLANG e SIRIVAT, 2009).

### **2.1.2 - INTUMESCIMENTO E EFEITO HOFMEISTER**

A PnIPam intumescer porque os grupos amida formam ligações de hidrogênio intermoleculares com a água ambiente, em temperaturas menores que a temperatura de transição LCST. Com o aumento da temperatura, estas interações quebram e as interações hidrofóbicas pelo grupo isopropil tornam-se predominantes, colapsando o hidrogel (CUGGINO, STRUMIA e IGARZABAL, 2010).

O equilíbrio do intumescimento é resultado do equilíbrio entre as interações hidrofóbicas e hidrofílicas e entre a força elástica existente que impede o gel de se expandir mais. O grau de reticulação da cadeia polimérica poderá determinar a intensidade dessa força elástica, ou seja, se o hidrogel for sintetizado com grande quantidade de agente reticulante apresentará menor grau de expansão o que um hidrogel sintetizado com menor quantidade de agente reticulante, no mesmo meio e condições (SILVA, 2006).

O estudo do comportamento de expansão dos hidrogéis em diferentes condições, como temperatura e força iônica do meio, tem grande importância no desenvolvimento de dispositivos de liberação de fármacos, sendo que esta propriedade pode ser responsável pelo tipo de mecanismo de liberação que o sistema polímero-fármaco se enquadra (SILVA, 2006).

A série de Hofmeister, Figura 4, classifica a influência relativa de íons em solução nas propriedades físicas de vários processos. A influência do íon nas propriedades macromoleculares é causada em parte pela formação ou quebra da estrutura da água. Nesta série, as espécies a

esquerda do  $\text{Cl}^-$  são chamadas de cosmotrópicos e os da direita caotrópicos, ambos referentes à habilidade dos íons em alterar a ligação hidrogênio da água. Os cosmotrópicos são formadores da estrutura da água, fortemente hidratados, têm estabilidade e levam ao efeito “*salting-out*” em macromoléculas em solução aquosa, isto é, geram altas densidades de carga que leva à forte interferência na ligação entre a água e a cadeia macromolecular. Os caotrópicos são quebradores de estruturas da água e levam ao efeito “*salting-in*”, gerando baixas densidades de carga que levam a pequenos efeitos na ligação hidrogênio (GALHARDO, 2009) (EGGERS, 2015).

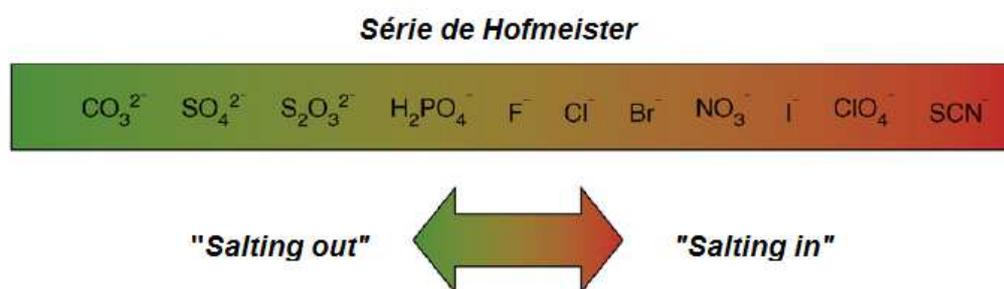


Figura 4: Série de Hofmeister. Adaptado de (ZHANG e CREMER, 2006)

Quando a Pnipam está em água, está rodeado por uma extensa camada de hidratação. A adição de sais à solução aquosa de Pnipam varia as propriedades da camada de hidratação e pode causar o rompimento das moléculas orientadas que estão no entorno do polímero, polarizando uma molécula de água adjacente que está envolvida em uma ligação de hidrogênio com o grupo amida do polímero (Figura 5a). Isto resulta num caráter mais hidrofóbico das cadeias poliméricas, aumentando a tensão superficial da cadeia principal e da cadeia lateral isopropil, diminuindo o valor do grau de intumescimento e da temperatura de transição (Figura 5b). O tipo e a concentração dos íons adicionados alteram a camada de hidratação sendo mais ou menos desestruturada no caso de íons de *salting out* – cosmotrópicos (EECKMAN, AMIGHI e MOES, 2001), (VIEIRA, 2006).

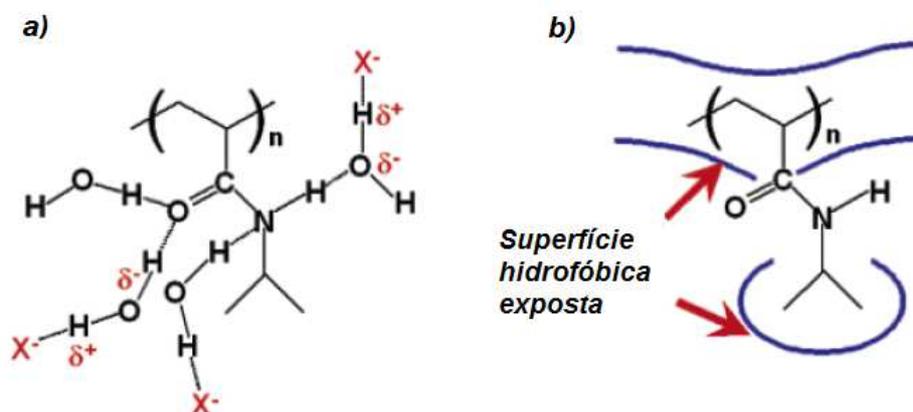


Figura 5: Interações entre íons, moléculas de água e a PnIPAM (Adaptado de (ZHANG e CREMER, 2006).

O efeito da força iônica no intumescimento pode ser, em princípio, explicada pelo Efeito Hofmeister e pelo gradiente de concentração. Estes mecanismos devem atuar simultaneamente.

## 2.2 - HIDROGÉIS INJETÁVEIS

Hidrogéis injetáveis são materiais os quais podem ser liberados através de uma seringa e então rapidamente formar um gel após a extrusão. Podem ser introduzidos dentro do corpo através de uma transplantação minimamente invasiva através de uma seringa ou tubo, evitando assim uma cirurgia aberta. As aplicações envolvem redução do tempo de cura, de cicatrizes, do risco de infecções e fácil liberação comparada com materiais cirurgicamente implantáveis (THIPMONTA, 2013). Esses hidrogéis podem atuar como suporte tridimensional temporário para evitar apoptose<sup>1</sup>, fornecendo o ambiente para crescimento celular e regeneração do tecido. Devido a sua moldabilidade podem ser inseridos dentro de defeitos com tamanhos e formas variadas, adaptando-se à forma do defeito cartilaginoso (LI, RODRIGUES e TOMÁS, 2012). Após a injeção e solidificação, o hidrogel formado *in situ* proporciona uma matriz tridimensional temporária à qual as células aderem, proliferam e diferenciam-se, dando origem a um tecido novo e funcional, e realizando a liberação de agentes bioativos no local (DE MOURA, 2014). Além disso, os hidrogéis

<sup>1</sup> Apoptose: conhecida como morte celular programada, é um tipo de destruição celular que ocorre para eliminar células supérfluas ou defeituosas.

são altamente hidrofílicos, exibindo alto teor de água, e uma estrutura macromolecular semelhante aos tecidos naturais, aumentando a biocompatibilidade e permitindo boa integração física com o defeito (TAN e MARRA, 2010), (LU, LI, *et al.*, 2011).

Hidrogéis injetáveis devem atender a determinados requisitos, a saber: a) serem feitos de materiais biocompatíveis; b) terem viscosidade baixa antes da gelatinização, permitindo dispersão homogênea; c) condições de gelatinização adequados, evitando problemas adversos; d) devem ter tenacidade e estabilidade suficiente, evitando efeitos causados por cargas internas e externas, como invasão de tecidos vizinhos e movimentos; e) apresentar porosidade adequada, tanto em tamanho de poro como em interconectividade de poros, permitindo o crescimento e atividade celular, bem como o fluxo livre de oxigênio e nutrientes (LI, RODRIGUES e TOMÁS, 2012).

Hidrogéis termosensíveis injetáveis são atraentes devido à sua gelatinização espontânea com o emprego da temperatura corporal. Os hidrogéis termosensíveis injetáveis podem ser injetados como um líquido e então, com a temperatura corporal, formar um gel sólido (ELIAS, LIU, *et al.*, 2015). A inserção de elementos bioativos dentro dos hidrogéis os torna ainda mais aplicáveis em engenharia de tecidos, aumentando a bioatividade celular.

A PnIPam tem sido usado juntamente com polímeros naturais como a quitosana, colágeno, sulfato de condroitina, dentre outros, melhorando o comportamento mecânico e a biocompatibilidade dos mesmos. Wiltsey e colaboradores desenvolveram hidrogéis de PnIPam graftizados com SC, formando um hidrogel injetável semissintético. Hidrogéis formados de PnIPam podem ser implantados por meio de procedimento cirúrgico minimamente invasivo, através de uma agulha de pequeno calibre, e solidificar *in situ* sem o uso de monômeros tóxicos ou outros reticulantes. As propriedades mecânicas foram avaliadas e verificou-se que o aumento da densidade de reticulação e a diminuição da concentração de SC aumentam as propriedades mecânicas a 37°C. Ao mesmo tempo, a incorporação de SC oferece maior potencial para a degradabilidade, atividade antiinflamatória e a absorção de água e nutrientes (WILTSEY, KUBINSKI, *et al.*, 2013).

Bai e colaboradores desenvolveram hidrogéis de PnIPam reticulados a partir de uma mistura de ciclodextrina e adamantano<sup>2</sup>, usados para o reparo de defeitos ósseos. Testes *in vivo* foram

---

<sup>2</sup> Adamantano: composto cristalino, C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>, um cicloalcano, descoberto no petróleo em 1933.

realizados e os resultados indicam que o hidrogel induz o reparo, demonstrando alto potencial em aplicações em engenharia de tecidos (BAI, LU, *et al.*, 2016).

### 2.3 - POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA) – PNIPAM

As poli(acrilamidas) são polímeros amorfos, solúveis em solventes polares tais como a água, soluções aquosas salinas, etc. Os polímeros de acrilamida N-substituída (Figura 6) são conhecidos por serem termosensíveis. Como exemplos temos o Poli(N,N-dietilacrilamida), o Poli(N-isopropilacrilamida-co-2-carboxiisopropilacrilamida), Poli(N-vinilalquilamidas), Poli(N-butilacrilamida) e o mais conhecido e estudado, a poli(N-isopropilacrilamida) – Pnipam (SILVA, 2006) (COLE, VOELCKER, *et al.*, 2009).

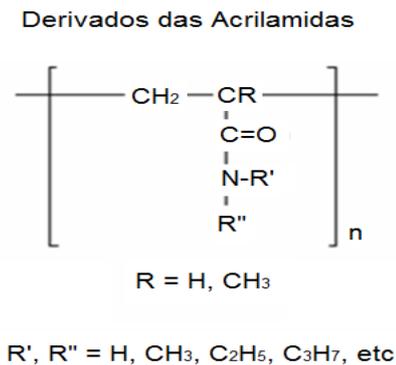


Figura 6: Representação da estrutura químicas dos derivados de Acrilamidas (Fonte: (SILVA, 2006))

A Pnipam é um dos polímeros termosensíveis mais utilizados nas áreas biomédicas. Formado a partir da polimerização do monômero Nipam (N-isopropilacrilamida), suas estruturas químicas podem ser visualizadas na Figura 7. Possui uma temperatura de solução crítica inferior ou *Lower Critical Solution Temperature* - LCST em solução aquosa na faixa de 30 a 35°C, dependendo da arquitetura molecular (ZOPPE, HABIBI, *et al.*, 2010). Sua natureza termosensível, bioestabilidade e biocompatibilidade o torna candidato para aplicações biomédicas, incluindo engenharia de tecidos (substituição de tecidos macios, músculos artificiais, etc), liberação de agentes terapêuticos e biológicos, membranas, curativos (TWAITES, ALARCÓN, *et al.*, 2005),

(GALPERIN, LONG e RATNER, 2010), (POSCHLAD e ENDERS, 2011), (JHAVERI, DESHPANDE e TORCHILIN, 2014), (AVERICK, MEHL, *et al.*, 2015).

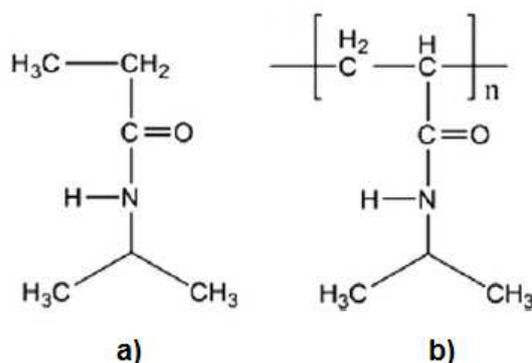


Figura 7: Representação das estruturas químicas a) monômero Nipam; b) polímero Pnipam.

Quando as cadeias poliméricas da Pnipam são reticuladas, o hidrogel formado é considerado não iônico e a resposta ao estímulo de temperatura aparece como o colapso volumétrico seguido da expulsão de seu conteúdo interior. Esta transição é denominada por alguns como temperatura de transição de fases volumétrica (Volume Phase Transition Temperature – VPTT), visto que os hidrogéis reticulados não se dissolvem em solução aquosa (GALPERIN, LONG e RATNER, 2010) (SINGKA, SAMAH, *et al.*, 2010). Em geral, as temperaturas VPTT e LCST são muito próximas e por isso a maioria dos autores não faz essa distinção entre os termos.

Quando a temperatura está abaixo da LCST, o polímero está num estado hidrofílico expandido. Contudo, quando a temperatura aumenta acima da LCST, o polímero sofre um rearranjo conformacional resultando no estado hidrofóbico colapsado. Esta variação conformacional é resultado da quebra das ligações de hidrogênio das moléculas de água em torno de segmentos hidrofóbicos (Figura 8). Abaixo da LCST, as ligações de hidrogênio da água servem para estabilizar e estender a cadeia (DEROSA, DEROSA, *et al.*, 2007).

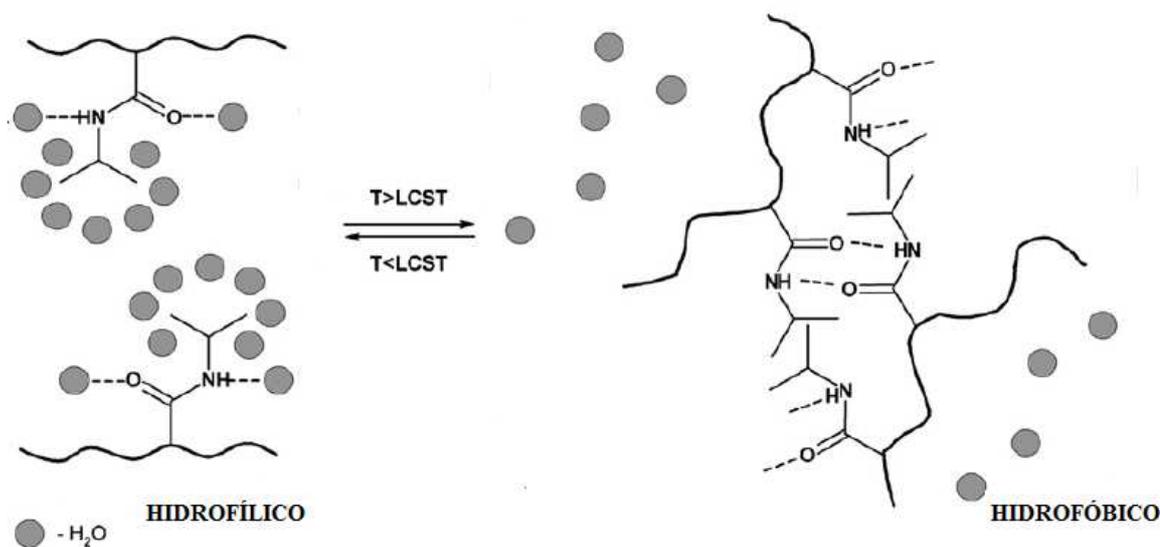


Figura 8: Transição de fases LCST da PnIPam. A altas temperaturas, a água ligada à cadeia é expelida do polímero e o polímero reorienta-se para formar ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Adaptado de (ELLIOTT, 2011) e (MARQUES, 2012). Adaptado de (DIMITROV, TRZEBICKA, *et al.*, 2007).

O comportamento LCST da PnIPam foi primeiramente relatado por Heskin e Guillet (PELTON, 2010). A PnIPam contém grupos amida hidrofílicos e grupos isopropil hidrofóbicos, de modo que tanto a interação hidrofílica quanto a hidrofóbica tem papel determinante na termosensibilidade do polímero (POSCHLAD e ENDERS, 2011). A temperatura de transição de fases corresponde à região no diagrama de fases onde a contribuição entálpica das ligações de hidrogênio das cadeias poliméricas torna-se menor que o ganho entrópico do sistema como um todo. Para a PnIPam, precisamente, este ganho entrópico das moléculas de água é referente principalmente ao grupo isopropil (DIMITROV, TRZEBICKA, *et al.*, 2007).

Quando intumescido, os hidrogéis de PnIPam podem carregar fármacos facilmente a partir do meio circundante, enquanto que a temperaturas acima da LCST, o polímero torna-se hidrofóbico, os hidrogéis colapsam e uma prolongada liberação do fármaco pode ser conseguida (MAYO-PEDROSA, ALVAREZ-LORENZO, *et al.*, 2007) (SOUSA, 2009). Estudos de Coughlan e colaboradores mostraram que o hidrogel, mesmo no estado contraído, apresenta liberação de fármaco (COUGHLAN e CORRIGAN, 2006).

Variações na LCST podem ser obtidas por modificações na estrutura do hidrogel, seja por reticulação, por copolimerização ou adição de sais e surfactantes (SIEGEL, 2014). A LCST diminui aumentando-se a hidrofobicidade da rede enquanto ela aumenta com o aumento da hidrofilicidade da rede. A adição de surfactantes, em geral, aumenta a temperatura de transição conforme aumenta

a concentração do mesmo. Kumar e colaboradores estudaram os efeitos da adição de um bio-surfactante, o NaC - Colato de Sódio, um sal biliar produzido no fígado, na temperatura de transição de fases da Pnipam. Verificou-se que a temperatura de transição de fases diminui levemente com o aumento da concentração de NaC (KUMAR, BOHIDAR e MISHRA, 2009).

Baseados no conceito de LCST, diversos copolímeros contendo Pnipam têm sido estudados para sistemas de liberação de fármacos. A estratégia é usar micelas<sup>3</sup> poliméricas termosensíveis para conseguir o controle temporal de liberação da droga: variando lentamente a temperatura do ambiente acima da LCST ocorre uma desestabilização da micela, desencadeando a liberação da droga encapsulada. Quando se forma a casca hidrofóbica na Pnipam, a droga é liberada e expressa a sua bioatividade por um período de tempo após o aquecimento local (WEI, ZHANG, *et al.*, 2006).

Wong e seu grupo de pesquisa desenvolveram microgéis de Pnipam com nanopartículas magnéticas. Neste conceito, as propriedades magnéticas e termosensíveis são unidas para uso em liberação de fármacos. A transferência de calor produzida pelas nanopartículas magnéticas dentro dos microgéis é suficiente para causar o colapso do microgel acima de sua temperatura de transição de fases, desencadeando a liberação do fármaco (WONG, GAHARWAR, *et al.*, 2008).

Um hidrogel composto de SC e Pnipam foi sintetizado por polimerização radicalar controlada RAFT (técnica de transferência reversível de cadeia por adição-fragmentação). As caracterizações demonstraram que o hidrogel formado tem potenciais aplicações como veículo de liberação de células terapêuticas (linhas celulares de carcinoma de colo de útero (HeLa) e linhas celulares de rim embrionário humano (HEK 293T)) (LU, LI, *et al.*, 2011).

Alvarez-Lorenzo e Concheiro estudaram o carregamento e a liberação de Cloridrato de Diltiazem, um antihipertensivo, dentro de hidrogéis de Nipam copolimerizados com ácido metacrílico. A 37°C a taxa de liberação mostrou-se independente do grau de reticulação, mas fortemente afetado pelo pH e a concentração de sal no meio (SOUSA, PRIOR-CABANILLAS, *et al.*, 2005). Craciunescu e colaboradores utilizaram hidrogéis de Pnipam com nanopartículas de óxido de ferro, denominado ferrogel. Esse material foi utilizado para liberação de atenolol em meio simulador gástrico e intestinal, sendo a liberação do fármaco diretamente proporcional a concentração das nanopartículas magnéticas (CRACIUNESCU, NAN, *et al.*, 2009).

---

<sup>3</sup> Micela: estrutura globular formada por um agregado de moléculas polares e apolares, dispersos em um líquido constituindo uma das fases do coloide.

O uso da Pnipam como substrato para adesão/liberação celular também tem crescido nos últimos anos. Neste método, em geral, é usado, primeiramente, um disco de cultura de tecidos graftizados com cadeias de Pnipam, Figura 9. O crescimento celular ocorre a 37°C, quando o sistema apresenta características hidrofóbicas. Após a formação da camada celular, a temperatura da cultura é diminuída, tendo  $T < LCST$ , e o sistema se torna hidrofílico. Então uma camada hidrofóbica é colocada sobre a camada de células crescidas. Sendo estas de caráter hidrófobico aderem-se à membrana. Portanto, a liberação celular acontece por causa da hidrofilicidade e hidratação das cadeias da Pnipam (COOPERSTEIN e CANAVAN, 2010).

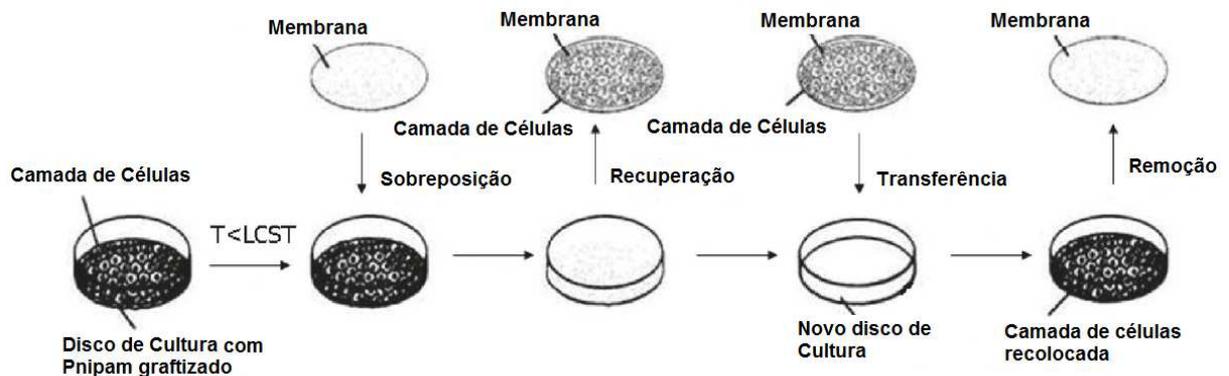


Figura 9: Esquema da engenharia de camada celular utilizando um disco de cultura com Pnipam graftizado [Adaptado de (COOPERSTEIN e CANAVAN, 2010)].

Sistemas contendo Pnipam têm sido utilizados no tratamento do câncer. Nanoplatasformas médicas baseadas em aglomerados de nanopartículas superparamagnéticas revestidas com Pnipam foram sintetizadas por Deka e grupo de pesquisa (Figura 10). Tais aglomerados foram utilizados como sistemas de liberação de doxorubicina (DOXO), um agente quimioterápico. O sistema foi testado em células tumorais e demonstraram a efetividade da encapsulação e posterior liberação de DOXO, causando a morte das células tumorais (DEKA, QUARTA, *et al.*, 2011).



Figura 10: Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro são inicialmente revestidas com metacrilato de 2-aminometila, para introdução de ligações C=C. Num segundo passo, os monômeros são copolimerizados na superfície das nanopartículas (Adaptado de (DEKA, QUARTA, *et al.*, 2011)

Ainda nessa linha de pesquisa, Hruby e colaboradores propuseram um sistema modelo no qual a Pnipam é utilizado na braquiterapia (radioterapia interna), um método de tratamento do câncer, especialmente câncer de próstata, pela inserção de implantes radioativos diretamente dentro do tecido tumoral. Em tal trabalho utiliza-se Iodo 131 como fonte radioativa. A Pnipam contendo o Iodo 131 é injetado dentro do músculo, permanece no local de aplicação, sendo eliminado lentamente do corpo. Os estudos em ratos indicaram que a redução do crescimento tumoral foi conseguido com uma única dose do material injetável (HRUBY, POUCKOVA, *et al.*, 2011).

Nanopartículas metálicas são capazes de absorver energia e gerar calor em resposta à aplicação de determinado comprimento de onda (LU, SUN e GU, 2014). Suzuki e Tanaka utilizaram o método de aquecimento fototérmico do material para indução localizada da separação de fase, pelo uso de laser. Os autores citados desenvolveram hidrogéis de Pnipam, os quais foram modificados quimicamente com algum grupo cromóforo. O cromóforo absorve na região visível do espectro e, portanto, quando é aplicado diretamente sobre a região um laser de íons de argônio com 488nm, a absorção de energia gera um aquecimento local (SUZUKI e TANAKA, 1991). Nayak e Lyon usaram um laser de HeNe para induzir a transição de fase em microgéis de Pnipam revestidos com corante verde malaquita, que tem forte pico de absorção a 620nm (NAYAK e LYON, 2004).

Embora não seja biodegradável, a Pnipam não é tóxico mesmo em altas concentrações e estudos tem mostrado que ele é eliminado lentamente do local onde é aplicado (HRUBY, POUCKOVA, *et al.*, 2011). Mallone e colaboradores estudaram a toxicidade da Pnipam e dois copolímeros, Poli (Nipam-co-N-Vinilacetamina) e Poli (Nipam-co-ácido acrílico), administrados oralmente. Os estudos mostraram que não houve variações significativas nos sinais clínicos, peso

corporal e consumo de alimentos, hematologia, e química clínica<sup>4</sup> dos animais utilizados na pesquisa. Também, os exames histológicos dos órgãos excisados mostraram não haver nenhuma diferença entre os ratos tratados e os de controle, indicando por conclusão a ausência de toxicidade cumulativa e de reações adversas (MALONNE, EECKMAN, *et al.*, 2005).

## 2.4 - SULFATO DE CONDROITINA

Nos animais vertebrados existem quatro tipos essenciais de tecido: epitelial, nervoso, muscular e conjuntivo. O tecido epitelial é aquele que reveste a superfície externa do corpo e cavidades internas, tendo a função principal de proteção da pele e sensações. O tecido nervoso é responsável pela recepção de estímulos e escolha da resposta adequada. O tecido muscular é responsável por responder aos estímulos recebidos pelo tecido nervoso. O tecido conjuntivo é responsável pelo estabelecimento e manutenção da forma do corpo, fazendo a ligação entre as diferentes células e órgãos, mantendo-os unidos e dando suporte mecânico. O tecido conjuntivo é compreendido como cartilagens, ossos e sangue (TORTORA e DERRICKSON, 2012) (SOUZA, MEDRADO e GITIRANA).

Nos epitélios, nervos ou músculos as células apresentam-se praticamente unidas, com pouca substância intercelular. Nos tecido conjuntivos, as células ficam espaçadas entre si, espaço este preenchido pela matriz extracelular (MEC). A função da MEC inclui o aspecto estrutural, auxílio na ligação das células para formação dos tecidos, reservatório para hormônios, controle do crescimento e diferenciação celular. A MEC é constituída de fibras proteicas e cadeias de polissacarídeos ou também chamadas glicosaminoglicanas (GAGs) (DOS ANJOS, ALVARES-SILVA e BORELLI, 2000).

As glicosaminoglicanas são formadas por unidades repetidas de dissacarídeos, sendo um deles um açúcar aminado (N-acetilglicosamina ou N-acetilgalactosamina) e sulfatado, e o segundo açúcar normalmente é um ácido hialurônico (glicurônico ou idurônico). As GAGs são formadas por longas cadeias de 70 a 200 monossacarídeos, sendo rígidas e hidrofílicas. Essa capacidade de retenção de água dá origem a um gel altamente hidratado, que preenche a maior parte do espaço

---

<sup>4</sup> Química clínica: bioquímica, interface entre a química e a patologia. Pode ser usada na medicina hospitalar e clínica como suporte para o médico confirmar ou descartar determinado diagnóstico.

extracelular, dando suporte mecânico para os tecidos e permitindo a difusão rápida de moléculas hidrossolúveis (SANCHES, 2013).

As propriedades das GAGs de biodegradabilidade, biocompatibilidade e solubilidade em água, combinadas com a habilidade de formar hidrogéis, os fazem promissores para engenharia de tecidos e aplicações em liberação de fármacos (NAIR e LAURENCIN, 2006).

As GAGs são subdivididas em (PEREIRA e CARVALHO, 2009):

1. Hialuronas ou ácido hialurônico;
2. Sulfato de Condroitina e Sulfato de Dermatana;
3. Sulfato de Heparana;
4. Sulfato de Queratana.

As GAGs, exceto a hialurona, ligam-se covalentemente a um núcleo proteico para formar a Proteoglicana (Figura 11). As proteoglicanas absorvem facilmente a água, contribuindo assim para a formação do líquido sinovial, a estabilidade e suporte do tecido conjuntivo, colaborando ainda para a manutenção do volume de água e com a distribuição de eletrólitos por todo o organismo (PERRIMON e BERNFIELD, 2001) (IOZZO e SCHAEFER, 2015).

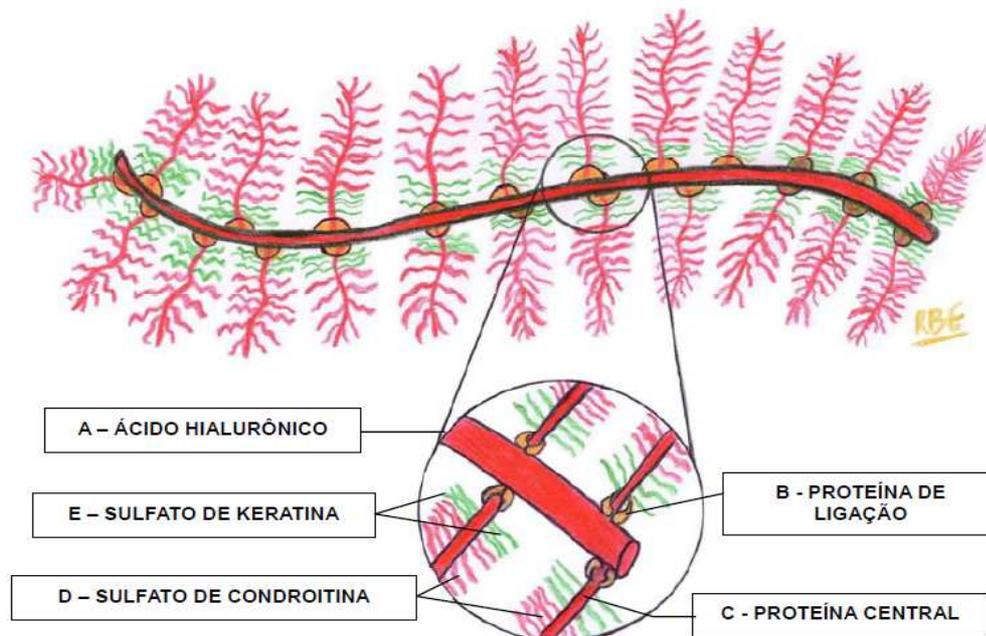


Figura 11: Agregado Supramolecular de Proteoglicano de cartilagem (ELEOTÉRIO, 2011).

O sulfato de condroitina, SC, é um polímero alternado de  $\beta(1,4)$ -D-ácido-glucurônico e  $\beta(1,3)$ -N-acetil-D-galactosamina que podem ser sulfatados nos carbonos C4 ou C6, chamados de sulfato de condroitina A ou C, respectivamente (Figura 12) (FAJARDO, 2009). O primeiro a descrever o SC foi Levene, em 1925, que mostrou os constituintes do mesmo (DOS SANTOS, 2012) (JARDIM, 2013).

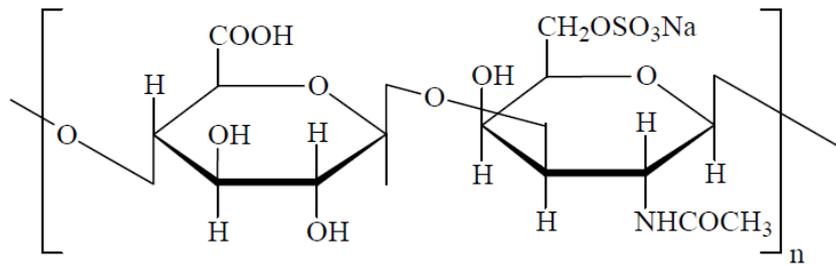


Figura 12: Estrutura da unidade repetitiva do Sulfato de Condroitina (PIAI, 2008).

O SC tem sido usado na preparação de redes poliméricas semi-IPN (semi interpenetrantes) ou hidrogéis compósitos IPN (DRAGAN, 2014). O uso de polímeros naturais tem se mostrado ser eficiente para aumentar a razão de intumescimento e a biocompatibilidade dos hidrogéis (VARGHESE, ISMAIL, *et al.*, 2008).

O sulfato de condroitina é um polissacarídeo encontrado na cartilagem e tecidos conectivos do corpo. Oferece resistência à compressão de tecidos conjuntivos, regulando seu conteúdo de água, e possui características como alta absorção de água, multifuncionalidade e biodegradabilidade (DIAS, 2008) (OPREA, CIOLACU, *et al.*, 2010). Além disso, a presença de grupos funcionais ativos como  $-\text{COO}-$  e  $-\text{SO}_3^-$ , fornecem acesso às funcionalidades biológicas, os quais têm sido explorados para aplicações no reparo de cartilagem *in vivo*.

Estudos mostram que, além da estimulação direta da cartilagem, o SC mostra ação de inibição da Interleucina-1<sup>5</sup> e metaloproteases<sup>6</sup>. O sulfato de condroitina é considerado um bom

<sup>5</sup> Interleucina-1 (IL-1): agente mediador na resposta imune contra a invasão bacteriana, inflamação, infecções e lesões teciduais.

<sup>6</sup> Metaloproteases: enzimas com a função específica de degradar diversos componentes da MEC. Quando o paciente possui artrite reumatoide, o líquido sinovial apresenta altas concentrações de metaloproteases que participam da destruição da cartilagem.

fármaco para o tratamento de osteoartrite, reduzindo a dor, principalmente após longos períodos, em comparação com o diclofenaco sódico (OPREA, CIOLACU, *et al.*, 2010) (BIANCHERA, SALOMI, *et al.*, 2014). A dose recomendada é de 1200 mg/dia (REZENDE e GOBBI, 2009) (MUZZARELLI, GRECO, *et al.*, 2012).

O sulfato de condroitina é um componente substituto da camada dérmica da pele aprovado pela FDA – Food and Drug Administration, do Departamento de Saúde e Serviços Humanos do governo americano, responsável pelo controle de novos medicamentos, cosméticos ou quaisquer outras substâncias afins (CHENG, HUNG, *et al.*, 2014).

Estudos dos efeitos do sulfato de condroitina A sobre a cartilagem articular normal e com doença articular degenerativa de cães foram feitos por Vieira e colaboradores. Nesse estudo, grupos experimentais com articulação osteoartrótica foram submetidos à intervenção cirúrgica, com aplicação de sulfato de condroitina (3 mg/Kg, por 30 dias). Observaram que o sulfato de condroitina reduziu as lesões degenerativas e estimularam o metabolismo da cartilagem (VIEIRA, MELO, *et al.*, 2010).

Associações de SC com outros polímeros naturais como quitosana, alginato, dentre outros, tem sido muito utilizado. Hidrogéis contendo 40% de quitosana e 60% de sulfato de condroitina foram estudados para serem usados como veículo para liberação de SC. O complexo polieletrólito formado apresenta reorganização macromolecular de acordo com a faixa de pH. Os complexos formados apresentaram potencial para aplicação em biomateriais (PIAI, 2008).

## 2.5 - CARTILAGEM ARTICULAR

A cartilagem articular é parte do tecido conjuntivo, descrito no item anterior. A cartilagem articular é um tecido macio hidratado biologicamente que reveste o final ósseo de todas as articulações diartrodiais ou sinoviais<sup>7</sup>, como apresentada na Figura 13, em que é ilustrada a cartilagem presente no joelho (DIAS, 2008). A função primária da cartilagem é distribuir a pressão do suporte de cargas e reduzir o desgaste durante o movimento articular. É formada,

---

<sup>7</sup> Articulações diartrodiais ou sinoviais: são aquelas que apresentam movimento livre, recobertas por cartilagem articular e unidas por ligamentos revestidos por membrana sinovial.

microscopicamente, por células denominadas condrócitos que estão alojadas em lacunas e circundadas pela matriz extracelular.

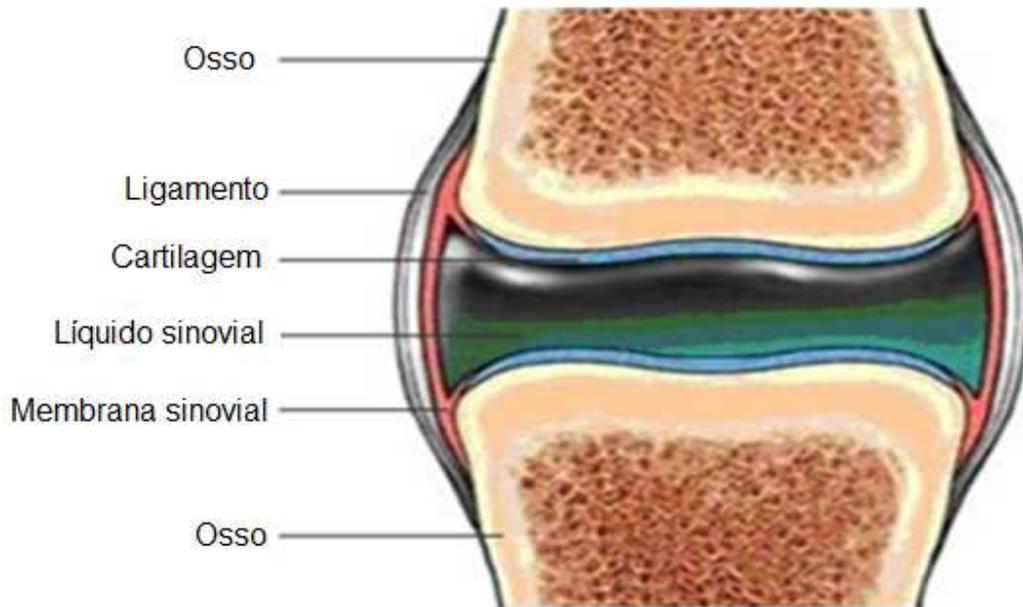


Figura 13: Imagem ilustrativa da cartilagem presente no joelho (REUMATÓIDE, 2016)

Uma vez lesado, a cartilagem articular tem capacidade limitada de reparo devido à falta de vascularização no tecido e a ausência de células de reparo (NAIR e LAURENCIN, 2006) (SANTOS JR e WADA, 2007). As cartilagens são desprovidas de capilares sanguíneos e, portanto, a oxigenação dos condrócitos é deficiente, fazendo estas células viverem sob baixa tensão de oxigênio. Os condrócitos são responsáveis pelo crescimento da cartilagem e uma vez que há deficiência de oxigenação, ocorre sério déficit de crescimento e/ou recuperação da cartilagem (SPÓSITO, 2009).

A degeneração da cartilagem articular é caracterizada por degradação e perda de cartilagem, alterações ósseas hipertróficas e, no estado clínico da doença, inflamação crônica da membrana sinovial (Figura 14). Lesões na cartilagem desenvolvem-se a partir de traumas articulares, como torções, contusões distensões e rupturas de ligamentos. Uma vez lesionada, libera mediadores inflamatórios dentro da articulação. Com a perda estrutural, ocorre a distribuição desigual de pesos, resultando em deformidades, dor e limitação de movimento, conhecido como osteoartrose ou osteoartrite (SAARAKKALA, RIEPPO e JURVELIN, 2010).

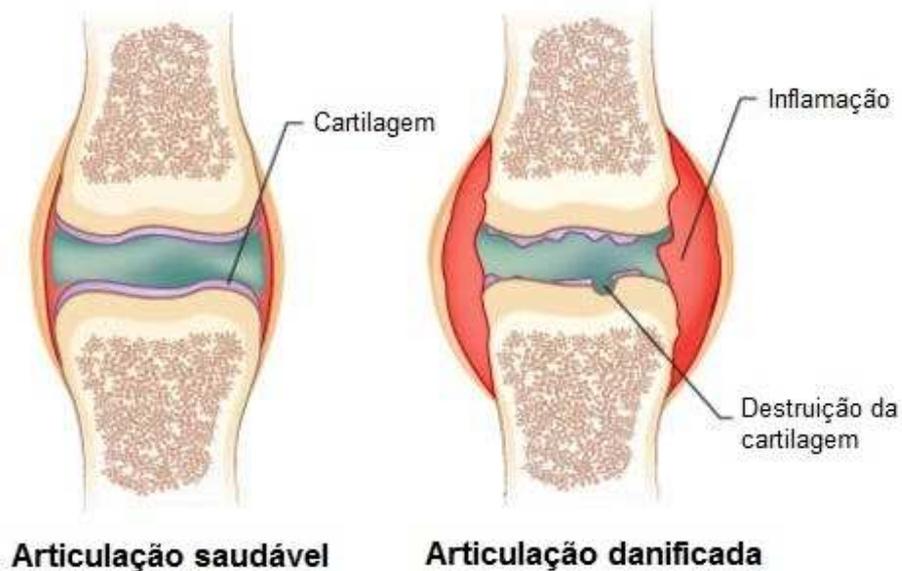


Figura 14: Imagem ilustrativa de articulação saudável e articulação danificada (SAÚDE, 2016).

As doenças articulares degenerativas são, em resumo, resultado de um sistema complexo de respostas mecânicas, biológicas, bioquímicas, moleculares e enzimáticas, que acarretam em falha dos condrócitos na manutenção do balanço homeostático<sup>8</sup> entre a síntese e a degradação da matriz extracelular. Assim, ocorre o predomínio do catabolismo, fase do metabolismo em que ocorre a degradação pelo organismo das macromoléculas, sobre o anabolismo, parte do metabolismo que conduz à síntese de moléculas complexas (ELEOTÉRIO, 2011).

A osteoartrose, também conhecida como artrose ou osteoartrite, é a mais frequente das doenças entre as designadas como reumatismos. Representa de 30 a 40% das consultas em reumatologia, sendo responsável por 7,5% dos afastamentos de trabalho (SEDA e SEDA, 2008) (BRASIL, 2014).

Entre as técnicas não invasivas de reparo de cartilagem estão métodos paliativos, diminuição da carga incidente na articulação como perda de peso, alteração das atividades e fortalecimento da musculatura que atravessa a articulação. Os métodos paliativos baseiam-se no alívio da dor, mas não preenche o defeito em si (SPÓSITO, 2009). Outra forma não invasiva de

<sup>8</sup> Balanço homeostático: propriedade de manter uma condição estável mediante ajustes de equilíbrio dinâmico.

tratamento é chamada Terapia PST - *Pulsed Signal Therapy* ou terapia com ondas magnéticas pulsáteis. A PST estimula a produção dos materiais por meio da emissão de impulsos adequados, que são recebidos como se fossem produzidos pelo próprio corpo. Conseqüentemente, se dá início ao processo de reparo da articulação.

Os tratamentos clínicos de lesões cartilaginosas mais comuns são compostos basicamente por procedimentos invasivos e com sérias limitações, dentre as quais se destacam:

- Transplante Autólogo de Condrócitos – introdução de células do tecido cartilaginoso do próprio paciente para o local lesionado. Na primeira cirurgia coleta-se a cartilagem hialina do joelho e esta será cultivada em laboratório para que os condrócitos se proliferem. Após seis semanas da coleta, realiza-se o segundo procedimento cirúrgico com desbridamento da lesão, formando uma cavidade onde serão injetados os condrócitos cultivados (BARRETO, PÉCORA, *et al.*, 2011).
- Transplante Autólogo Osteocondral: também conhecida como mosaicoplastia, consiste na retirada de cilindros osteocondrais de 15 mm de profundidade de áreas anatómicas do joelho chamadas tróclea ou intercôndilo, sendo transplantadas para o local da lesão, que não deve ser grande (COHEN, AMARO, *et al.*, 2012).
- Cirurgia de microfratura – criação de pequenos buracos no osso próximo à cartilagem danificada, liberando células-tronco presentes na medula óssea, para promoção da regeneração da cartilagem (SHARMA, FERMANIAN, *et al.*, 2013).
- Desbridamento – remoção dos tecidos desvitalizados e/ou material estranho da ferida. A técnica tenta restabelecer um leito ósseo sangrante, para que se forme um tecido cicatrizante para reparar a lesão (FILHO, DOCA, *et al.*, 2012).

Dessa forma, têm-se buscado biomateriais capazes de serem utilizados como reparadores da cartilagem articular através de procedimentos clínicos alternativos à substituição total da articulação por próteses nos casos iniciais de lesão (BAVARESCO, 2000). Em medicina regenerativa é necessário o uso de materiais que possam liberar facilmente células ou fármacos sem sofrer nenhum tipo de dano. Idealmente, esses materiais devem servir de matriz para o crescimento celular, desenvolver uma matriz extracelular e formar um tecido. O uso de hidrogéis mostra-se promissor, devido a sua biocompatibilidade e habilidade em ser usado como dispositivo de liberação controlada de fármacos e fatores de crescimento. Ainda, o uso de hidrogéis

termosensíveis permite seu uso como materiais injetáveis, com a gelificação “*in situ*” após a aplicação (YASMEEN, LO, *et al.*, 2014). Hidrogéis termosensíveis de Pnipam são grandes candidatos para tais aplicações (COOPERSTEIN e CANAVAN, 2010).

Implantes poliméricos para o reparo de lesões da cartilagem são fáceis de serem produzidos, apresentam comportamento mecânico semelhante ao da cartilagem, sendo biocompatíveis. Podem ser classificados como biodegradáveis ou como materiais de preenchimento, permitindo a restauração de uma superfície articular funcional (MALMONGE e ZAVAGLIA, 1997). No nosso trabalho, considerando que utilizamos hidrogéis de Pnipam, este se enquadra na categoria de implantes de preenchimento, visto ser um polímero não biodegradável.

Hidrogéis vêm sendo utilizados no reparo de defeitos da cartilagem articular desde a década de 70, quando hidrogéis de Poli (álcool vinil) foram desenvolvidos para serem utilizados em cirurgias de reconstrução de juntas articulares (PEPPAS e MERRIL, 1977). Hidrogéis injetáveis baseados em poli (óxido de etileno) têm sido empregados como arcabouços para engenharia de tecidos de cartilagem (NAIR e LAURENCIN, 2006).

Adesivos de SC foram preparados por Wang e colaboradores, funcionalizado o SC com grupos metacrilato e grupos aldeído. O adesivo serve como um “tecido iniciador”, que forma uma espécie de ponte entre o tecido da cartilagem e o hidrogel, sem penetrar ou danificar a cartilagem. Após ser aplicado na cartilagem danificada, uma solução monomérica com um iniciador é aplicado, sendo polimerizado por luz. A Figura 15 mostra o diagrama esquemático da aplicação do adesivo de SC e hidrogel (WANG, VARGUESE, *et al.*, 2007).

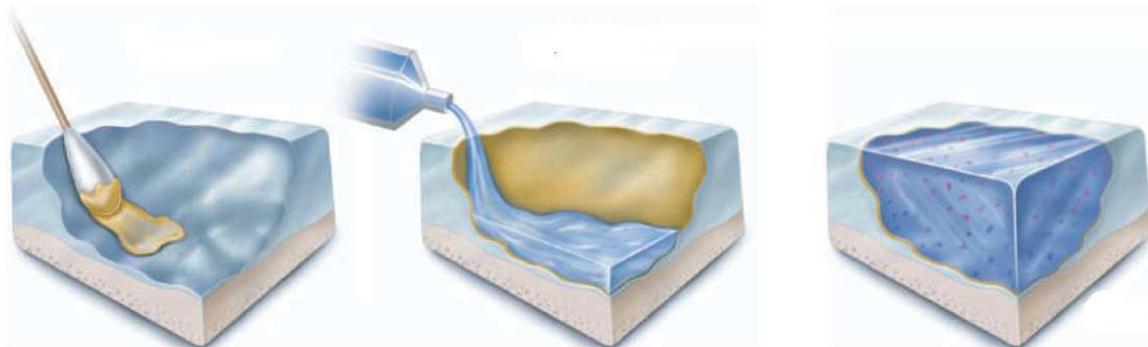


Figura 15: Diagrama esquemático da aplicação do adesivo de SC e hidrogel. O adesivo é aplicado a superfície da cartilagem. Em seguida, a solução monomérica é aplicada, formando assim o hidrogel (WANG, VARGUESE, *et al.*, 2007).

Sharma, Fermanian e colaboradores desenvolveram um hidrogel formado a partir da dissolução de um sólido, o PEG – Polietilenoglicol. O método combina a cirurgia de microfratura com a aplicação de um hidrogel que promove a regeneração do tecido cartilaginoso. O hidrogel é inserido onde há falhas na cartilagem, proporcionando substâncias e condições adequadas para o crescimento da cartilagem. Os pacientes tratados com o hidrogel tiveram 86% dos defeitos na cartilagem corrigidos (SHARMA, FERMANIAN, *et al.*, 2013).

## 2.6 - NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NPsAg)

Nanopartículas são materiais que apresentam dimensões nanométricas, entre 1 e 100 nm. Um material é classificado como nanométrico quando ele possui pelo menos uma de suas dimensões ocorrendo dentro da faixa descrita. As propriedades das nanopartículas dependem do tamanho, da distância entre as partículas, do agente de revestimento e da forma (SANTOS, 2011). Quando o material apresenta escala nanométrica ele adquire novas propriedades físico-químicas quando comparadas aos seus equivalentes em escala macroscópica (ALBERNAZ, 2014).

A prata é um agente antibacteriano inorgânico seguro e atóxico usado há séculos, capaz de matar mais de 650 tipos de microorganismos causadores de doenças (CHENG, HUNG, *et al.*, 2014). Na forma de nanopartículas são altamente eficazes não só no combate à bactérias, mas também aos vírus. Isso ocorre porque, ao entrar em contato com a membrana celular dos microorganismos, as nanopartículas de prata – NPsAg, causam danos no processo de respiração celular e permeabilidade, além de se ligarem ao enxofre e ao DNA, impedindo a divisão celular (NETO, RIBEIRO e ZUCOLOTTI, 2008) (ANTUNES, DAL'ACQUA, *et al.*, 2013). Por isso, tem ampla gama de aplicações biológicas, como na prevenção de infecções, cicatrização de feridas e úlceras crônicas, como anti-inflamatórios e como agente antibacteriano para bactérias que são resistentes a antibióticos. Usados em resinas dentárias, cimento ósseo, revestimentos para dispositivos médicos como próteses e cateteres, dentre outros (ANTUNES, DAL'ACQUA, *et al.*, 2013).

Grande variedade de nanopartículas metálicas, principalmente metais nobres como ouro (NPsAu) e Prata (NPsAg) são aplicadas em diversas áreas por causa de suas características de grande área superficial específica, estabilidade química e aplicabilidade biológica (MA, WEI, *et al.*, 2016). A elevada razão superfície/volume e a estrutura superficial cristalográfica das NPsAg

contribuem para uma atividade antibacteriana mais eficiente e menor toxicidade em humanos comparada aos íons de prata. A interação entre as NPsAg e corpo humano não são totalmente esclarecidos mas, segundo a Agência de Proteção Ambiental Americana, a Environmental Protection Agency (EPA), uma concentração de  $5 \mu\text{g Kg}^{-1}/\text{dia}$  não é tóxica as células humanas (SANTOS, 2011).

Diversas formas de síntese das NPsAg têm sido empregadas, incluindo redução química (ANTUNES, DAL'ACQUA, *et al.*, 2013), precipitação (MATSUSHITA, INABA, *et al.*, 2012), microemulsão, irradiação com raios  $\gamma$ , método eletroquímico, autoclave, microondas e redução fotoquímica (VASIREDDY, PAUL e MITRA, 2012) (CHENG, HUNG, *et al.*, 2014) (JOSEPH e MATHEW, 2015). Todas as formas se dão pelo uso de produtos químicos, que possuem menor biocompatibilidade para aplicações biomédicas, além de gerar resíduos também tóxicos.

Em geral, os métodos de síntese envolvem a redução dos precursores em um meio líquido, o meio dispersante, na presença de um agente redutor e estabilizante. Nesta rota ocorrem as etapas de nucleação e crescimento, ainda não muito conhecidas. No início da reação um pequeno número de núcleos são formados, sendo esta a etapa da nucleação. Essa formação ocorre devido ao movimento Browniano, onde partículas ou átomos dispersos na fase líquida sofrem diversas colisões uns com os outros. Essas movimentações produzem certo grau de ordenamento, podendo evoluir para partículas maiores ou formar sólidos. Quando os núcleos já estão formados, tendem a se agregarem de maneira rápida e constroem cristais maiores e mais estáveis termodinamicamente, iniciando então a etapa de crescimento (SANTOS, 2011).

Atualmente, rotas de síntese alternativas têm sido utilizadas, sendo ambientalmente seguras e sustentáveis, chamadas de síntese verde. A síntese verde, síntese biológica ou síntese biogênica são denominações usadas para a síntese ecologicamente correta de nanopartículas (RAI, 2013). Para a produção de NPsAg através da síntese verde são usados sistemas biológicos como extratos de plantas (NARAGINTI e SIVAKUMAR, 2014) (SANA, BADINENI, *et al.*, 2015), fungos, fermentos e bactérias, e polissacarídeos naturais como alginatos, heparina, celulose, ácido hialurônico, amido e sulfato de condroitina (PARK, HONG, *et al.*, 2011) (CHUNG, PARK, *et al.*, 2016). O uso destes agentes estabilizantes é essencial no controle de crescimento das nanopartículas, impedindo a agregação destas, por serem capazes de compensar as forças atrativas de Van der Waals com as forças de repulsão eletrostáticas. A repulsão eletrostática ocorre pela deposição superficial de inúmeras camadas sobre as NPs, através da adsorção de um composto de

carga negativa ou positiva, dando-lhes portanto, potencial eletrostático, resultando em uma força de repulsão coulômbica entre partículas individuais (NATH, JANA, *et al.*, 2009).

A síntese verde tende a utilizar solventes com toxicidade variando de baixa a nula, levando a um baixo impacto ambiental e também apresentam custo de produção baixo, com alto rendimento. Além disso, as NPs sintetizadas por síntese verde apresentam maior biocompatibilidade e biodegradabilidade (ALBERNAZ, 2014).

Estudos mostram que os polissacarídeos possuem muitas funcionalidades, incluindo grupos hidroxila, hidrofílicos, presentes nas moléculas dos polissacarídeos que reduzem e estabilizam as NPsAg e contribuem também para a solubilidade em água dos complexos formados (SEN, MANDAL, *et al.*, 2013) (NARAGINTI e SIVAKUMAR, 2014). Os polissacarídeos mais utilizados na síntese de NPsAg são a heparina, ácido hialurônico, quitosana, celulose, amidos, dextranas e o sulfato de condroitina (PARK, HONG, *et al.*, 2011).

A síntese verde, caracterização e avaliação da atividade biológica e viabilidade celular de fibras de ácido hialurônico (HA) com NPsAg foram estudadas por Abdel-Mohsen e colaboradores. As fibras de ácido hialurônico foram usadas como agente redutor e estabilizante das NPsAg. O composto formado HA-NPsAg mostrou alta atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os estudos de viabilidade celular mostram que o composto não é tóxico para o crescimento celular (ABDEL-MOHSEN, HRDINA, *et al.*, 2013).

Kumar Sen e colaboradores realizaram a síntese verde de NPsAg utilizando um polissacarídeo neutro, o (1-6)- $\beta$ -D-glucano, isolado a partir de um cogumelo comestível *Pleurotus florida*. O complexo sintetizado mostrou ser um excelente agente bactericida contra várias bactérias resistentes a antibióticos, sendo também compatível com os glóbulos vermelhos humanos em uma concentração de 15  $\mu$ g/mL. Outro fator importante neste estudo foi o efeito antibacteriano encontrado quando da utilização do complexo formado juntamente com diferentes antibióticos, que atuam sinergicamente, indicando uma potencial estratégia no combate à bactérias (SEN, MANDAL, *et al.*, 2013).

As nanopartículas de prata sintetizadas usando sulfato de condroitina como agente redutor/estabilizador tornam-se biocompatíveis e cristalinas, pois evitam o uso de químicas tóxicas, obtendo bons rendimentos.

Um estudo de cicatrização de feridas e atividade antibacteriana das nanopartículas de prata reduzidas por SC (SC-NPsAg) realizados por Kim e colaboradores mostra um aumento de cerca

de 128 vezes da atividade antibacteriana contra *Enterobacter cloacae* e *Escherichia Coli* quando comparadas ao SC sozinho. Além disso, o estudo *in vivo* mostra que pomadas contendo o complexo SC-NPsAg estimulam a cicatrização de feridas e aceleram a deposição de tecido e colágeno na área ferida, mostrando seu potencial uso para estes fins (KIM, IM, *et al.*, 2013).

Bjapai e colaboradores estudaram redes de Pnipam produzidas em tecidos de algodão poroso para uso em feridas e curativos. A termosensibilidade da Pnipam foi utilizada ainda para aprisionar NPsAg com o tecido. Os tecidos fabricados indicam possíveis aplicações em biomedicina (BAJPAI, BAJPAI, *et al.*, 2014).

A formação das nanopartículas pode ser acompanhada por medidas de espectroscopia de absorção no ultravioleta devido ao surgimento de uma banda de ressonância plasmônica de superfície (Surface Plasmon Resonance – SPR). Na superfície das NPs metálicas ocorre a presença do chamado *plasmon*, um grande número de elétrons livres que podem oscilar coletivamente na interface entre um condutor e um oscilante, gerando o fenômeno do plasmon superficial, responsável pelas mudanças na coloração das NPs. As excitações coletivas dos elétrons quando da incidência de uma radiação eletromagnética sobre a NP, induzem a formação de dipolos e promovem a polarização da NP (Figura 16).

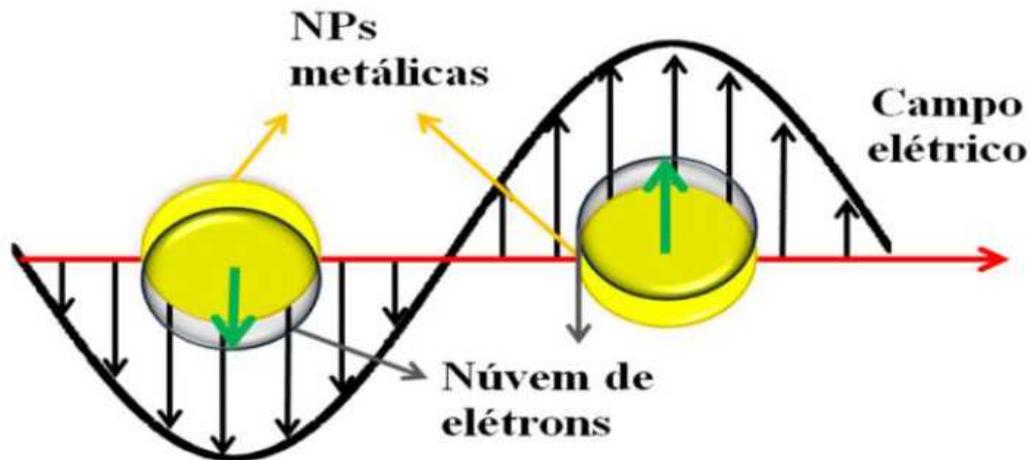


Figura 16: Oscilação de plasmon das NPs metálicas em resposta a um campo eletromagnético, mostrando o deslocamento da nuvem de elétrons relativo ao núcleo [Fonte: (SANTOS, 2011)].

No momento em que o campo elétrico, proveniente da radiação eletromagnética, atua na NP, a nuvem de elétrons sofre um deslocamento em relação aos núcleos e as cargas positivas agem

juntas como uma força restauradora, de origem coulombiana, fazendo com que os elétrons oscilem coerentemente. Para que haja momento de dipolo é indispensável que a nuvem de elétrons oscile na mesma frequência que o comprimento de onda da radiação incidente. Quando um fóton da radiação incidente entra em ressonância com a oscilação coletiva dos elétrons de condução, a absorção ocorre. Cada comprimento de onda produz uma oscilação diferente na nuvem eletrônica, podendo ser ressonante ou não.

A banda de absorção dos plasmons superficiais pode ser observada num espectro de absorção óptico linear obtido a partir da absorção na região do UV-Vis. O alargamento e o deslocamento das bandas determinam a qualidade de distribuição dos tamanhos das nanopartículas e pode determinar também a estabilidade (MACHADO, 2012). Particularmente, as NPsAg apresentam intenso pico de absorção nos comprimentos de onda entre 400 e 500 nm devido ao SPR. Observa-se uma variação da cor da solução quando da formação das NPsAg, de incolor a tons amarelados ou amarronzados, de acordo com o tamanho das NPs produzidas e com a composição do meio em que estão dispersas.

## 2.7 - ELETROQUÍMICA E VOLTAMETRIA CÍCLICA

A eletroquímica estuda os fenômenos químicos que envolvem a separação e/ou transferência de cargas elétricas. Em geral, as reações de transferência de cargas ocorrem em eletrodos diferentes separados fisicamente e imersos em um eletrólito (BRETT e BRETT, 1994). Quando uma espécie perde elétrons ocorre a oxidação e quando uma espécie ganha elétrons ocorre a redução. Esses processos podem ser expressos pela reação eletroquímica de oxirredução descrita como:



onde O e R são as espécies oxidadas e reduzidas, respectivamente e n é o número de elétrons envolvidos na reação. Para haver redução os elétrons devem ter uma energia mínima para que sejam transferidos, ou seja, deve ser imposto um potencial negativo ao eletrodo que doará elétrons para que ocorra redução. Para a oxidação, o nível desocupado deve apresentar uma energia máxima

de forma que possa receber elétrons das espécies na solução, ou seja, deve-se aplicar um potencial positivo ao eletrodo onde ocorrerá oxidação (WANG, 2000).

A célula eletroquímica para análise voltamétrica é constituída por três eletrodos: um eletrodo de trabalho, em que ocorre a reação eletroquímica de interesse; um eletrodo auxiliar, ou contraeletrodo, por onde flui a corrente da célula eletroquímica, e um eletrodo de referência, cujo potencial é constante e que permanece estável sob as condições de medida. Os três eletrodos são imersos em excesso de eletrólito inerte (eletrólito de suporte), responsável por minimizar o fenômeno de migração e diminuir a resistência da solução (DE MIRANDA, 2011). Durante a eletrólise o reagente é transportado para a superfície do eletrodo por meio dos mecanismos de migração, convecção e difusão. A migração surge sob influência de um campo elétrico, a convecção é resultante de agitação ou vibração e a difusão em razão da diferença de concentração entre a superfície do eletrodo e a solução (TICIANELLI e GONZALEZ, 2013).

As reações de interesse são aquelas que ocorrem no eletrodo de trabalho, onde os íons presentes são reduzidos. Para isso, os íons devem possuir energia suficiente para vencer o potencial de equilíbrio do eletrodo. Essa energia adicional é conseguida através da aplicação de um sobrepotencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, porém medido em relação ao eletrodo de referência. Esse potencial de equilíbrio pode surgir devido à formação da dupla camada elétrica entre eletrodo e eletrólito (KORYTA, DVORAK e KAVAN, 1993).

Na dupla camada elétrica, a primeira camada de íons de soluto e de solvente na camada adjacente ao eletrodo não possuem mobilidade, estando adsorvidas especificamente ao eletrodo por forças de van der Waals e eletrostática (plano interno de Helmholtz ou camada interna). O soluto adsorvido pode ser moléculas neutras, cátions ou ânions. Para um eletrodo negativamente carregado, a camada externa ou camada difusa ou plano externo de Helmholtz, é rica em cátions solvatados e possuem certa mobilidade, sendo atraídos pelo eletrodo negativo. Porém, devido aos raios de hidratação, estas espécies não conseguem alcançar a superfície do eletrodo. O excesso de cátions diminui com o aumento da distância em relação ao eletrodo. A camada difusa vai da camada interna ao seio da solução. Os cátions na camada interna não conseguem balancear completamente a carga do eletrodo. Por isso, são necessários cátions em excesso na parte difusa da dupla camada para que exista eletroneutralidade. Nesta camada, a concentração da espécie eletroativa é proporcional à concentração da espécie no seio da solução. A Figura 17 representa os modelos propostos de dupla camada elétrica, relatados a seguir.

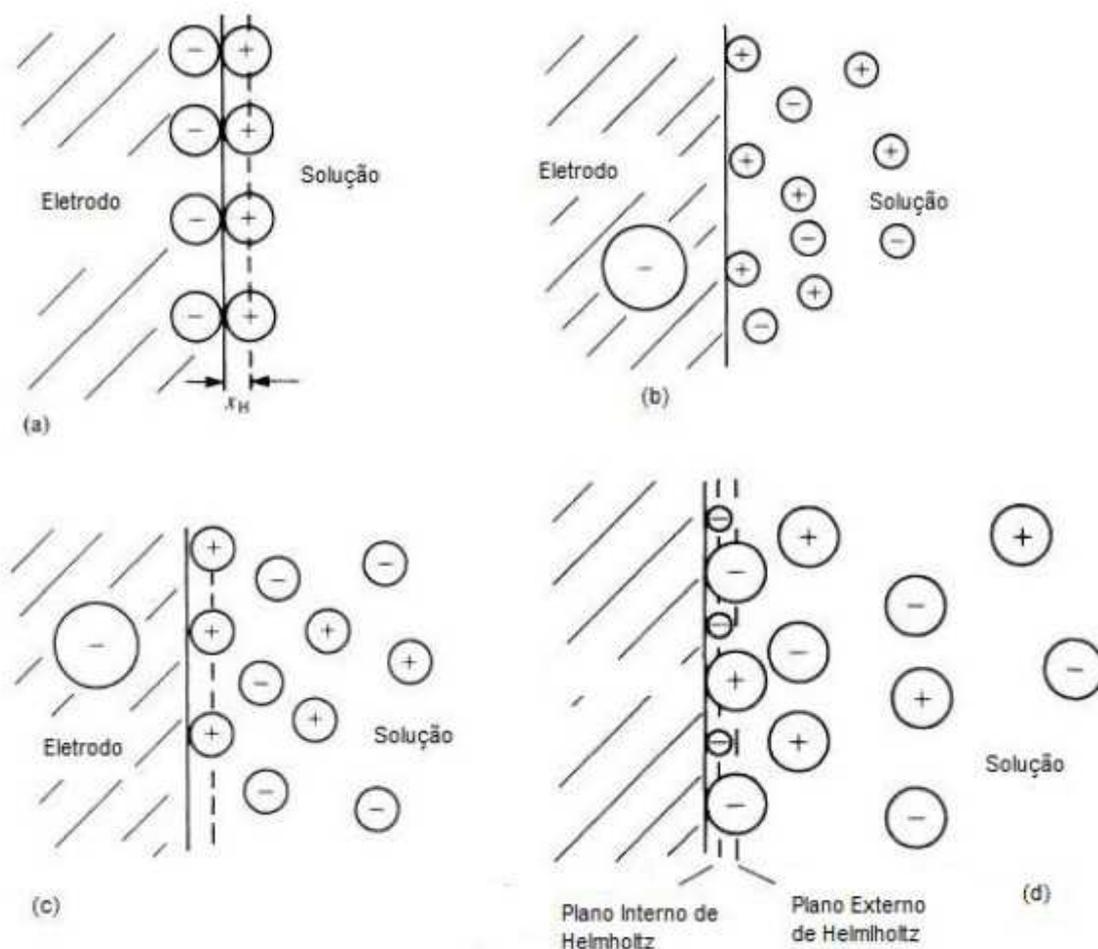


Figura 17: Modelos de dupla camada elétrica: a) modelo de Helmholtz; b) modelo de Gouye Chapman; c) modelo de Stern e d) modelo de Grahame. [Adaptado de (BRETT e BRETT, 1994)]

Helmholtz, em 1879, fez a primeira tentativa de descrever o arranjo espacial de cargas elétricas na interface eletrodo-eletrólito, sendo este um capacitor de placas paralelas (Figura 17a). Porém, apenas uma placa existe verdadeiramente, sendo formada pelo eletrodo. A outra placa é formada por íons de mesmo sinal especificamente adsorvidos na interface. O plano paralelo ao eletrodo, que corta o centro dos íons adsorvidos a uma distância  $x_H$  do eletrodo é denominado plano interno de Helmholtz. Esse modelo não leva em consideração as interações que ocorrem além dessa primeira camada e nem a concentração de eletrólito presente (WANG, 2000).

Gouy e Chapman, entre 1910 e 1913, propuseram o modelo de camada difusa, considerando agora a influencia do eletrólito e do potencial aplicado na capacitância da dupla camada (Figura

17b). Neste modelo a dupla camada não é compacta, mas com espessura variável e os íons podem mover-se livremente (BARD e FAULKNER, 2001).

Outro modelo proposto foi o de Stern, em 1924, que combina os modelos de Helmholtz e de Gouy-Chapman, considerando agora que a dupla camada é formada por uma camada compacta próxima ao eletrodo e uma camada difusa que se estende até o interior da solução. A distância  $x_H$  do eletrodo é onde ocorre a transição entre essas duas camadas. O plano que está a essa distância é o plano externo de Helmholtz. Fisicamente, isso é equivalente a dois capacitores associados em série, formados pela camada difusa e pela camada compacta. O modelo é apresentado na Figura 17c (ALLEONI e DE CAMARGO, 1994).

Grahame, por sua vez, em 1947, desenvolveu o modelo constituído por três regiões: uma de íons especificamente adsorvidos, mais próximos ao eletrodo; outra região formada pelos íons não solvatados e não especificamente adsorvidos e por último a região difusa que está fora do plano externo de Helmholtz (Figura 17d) (BRETT e BRETT, 1994)

A voltametria cíclica é uma técnica eletroanalítica que se baseia nos fenômenos que ocorrem na interface entre o eletrodo de trabalho e a fina camada de solução adjacente a essa superfície (PACHECO, SEMAAN, *et al.*, 2013). Informações qualitativas e semi-quantitativas de uma espécie química podem ser obtidas em função do potencial aplicado, que varia com o tempo (NASCIMENTO, 2013).

Durante um experimento de VC a resposta de corrente de um eletrodo estacionário em uma solução mantida em repouso é excitada na forma de uma onda triangular que produz a varredura no sentido direto e depois no sentido inverso. Os potenciais nos quais a reversão ocorre são chamados de potenciais de inversão. O potencial é aplicado entre o eletrodo de trabalho e o de referência, variando-se o potencial a uma velocidade constante em função do tempo (Figura 18). O sinal analítico corresponde a corrente gerada entre o eletrodo de trabalho e o contraeletrodo. O gráfico da corrente gerada em função do potencial é conhecido como voltamograma (Figura 19).

A corrente obtida em medidas voltamétricas apresenta duas componentes: a corrente faradaica e a corrente capacitiva. A corrente faradaica surge devido à oxidação ou à redução do analito no eletrodo de trabalho, sendo proporcional à quantidade de produto de uma reação química na interface eletrodo/solução. A corrente capacitiva, por sua vez, surge da polarização do eletrodo de trabalho. A interface eletrodo/solução comporta-se como se fosse um capacitor de placas paralelas, e a corrente de carga deste capacitor é a corrente capacitiva (NECKEL, 2009).

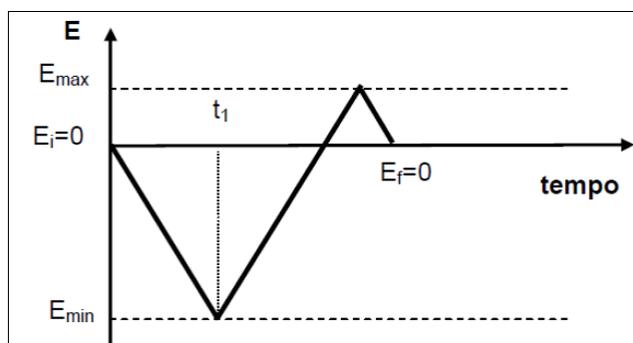


Figura 18: Forma de onda de excitação triangular para a voltametria cíclica (NECKEL, 2009).

Os parâmetros importantes em um voltamograma cíclico são o potencial de pico catódico ( $E_{p,c}$ ), o potencial de pico anódico ( $E_{p,a}$ ), a corrente de pico catódica ( $I_{p,c}$ ), e a corrente de pico anódica ( $I_{p,a}$ ) (SOUZA, 2011) (DE OLIVEIRA, 2013). Além disso, também são parâmetros importantes estabelecer a direção da varredura inicial e a velocidade de varredura. Por convenção, as correntes catódicas, de redução, são tratadas como positivas, enquanto correntes anódicas, de oxidação, são negativas. A Figura 19 apresenta graficamente os parâmetros a serem observados em voltamogramas.

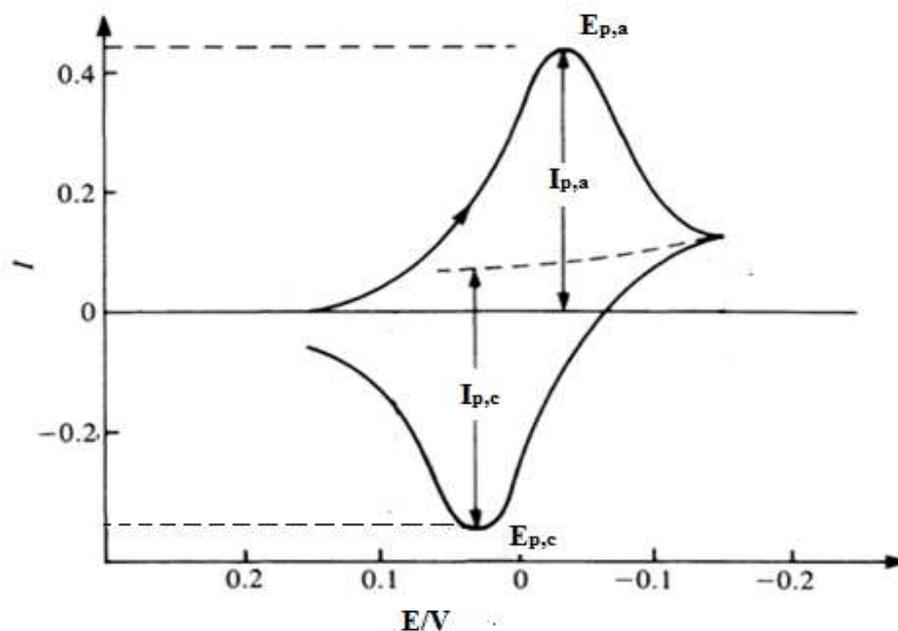


Figura 19: Voltamograma cíclico representativo de um de um processo reversível: parâmetros importantes a serem observados [Adaptado de (BRETT e BRETT, 1994)]

As reações químicas redox podem ser classificadas como reversíveis, quasi-reversíveis ou irreversíveis. Uma reação é considerada reversível quando o produto inicial de oxidação ou de redução formado durante a varredura é respectivamente reduzido ou oxidado na varredura inversa. As reações quase-reversíveis ocorrem quando a velocidade relativa de transferência eletrônica comparada com a correspondente ao transporte de massa é insuficiente para manter o equilíbrio de Nerst na superfície do eletrodo. Já as reações irreversíveis ocorrem quando a velocidade do processo de transferência de carga é baixa comparada à velocidade de transporte de massa (BRETT e BRETT, 1994) (SILVA, 1998) (WANG, 2000) (BROWNSON, KAMPOURIS e BANKS, 2012).

O potencial de meia onda, Equação 13, está relacionado com o potencial padrão para a semi reação, sendo característico da substância eletroativa e reflete a facilidade de redução ou oxidação da substância em um dado eletrólito.

$$E^0 = \frac{(E_{p,a} + E_{p,c})}{2} \quad (13)$$

Para uma reação eletródica reversível, as correntes de pico catódico e anódico são aproximadamente iguais em valores absolutos, com sinais opostos. Para uma reação eletródica reversível, a 25 °C, a diferença entre os potenciais de pico,  $\Delta E_p$  deve ser (DE OLIVEIRA, 2013):

$$\Delta E_p = |E_{p,a} - E_{p,c}| = \frac{0,059}{n} \quad (14)$$

onde  $n$  é o número de elétrons envolvidos na semi-reação. Como consequência desta relação, o potencial redox  $E^0$  é independente da velocidade de varredura de potencial e da concentração da espécie eletroativa. A reversibilidade é função da velocidade de varredura utilizada, conforme equação de Randles-Sevcik, que a 25°C é:

$$i_{p,c} = -2,686 \times 10^5 n^{3/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (15)$$

onde  $i_{p,c}$  é a corrente de pico catódica,  $A$  corresponde à área do eletrodo em  $\text{cm}^2$ ,  $D$  refere-se ao coeficiente de difusão em  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ,  $C$  equivale à concentração em  $\text{mol cm}^{-3}$  e  $\nu$  é a velocidade de

varredura em  $V s^{-1}$  (BRETT e BRETT, 1994),(UFJF, 2007), (SOUZA, 2011). Observa-se, portanto, que a corrente de pico é diretamente proporcional à concentração e a raiz quadrada da velocidade de varredura.

A aplicação em sistemas biomédicos requer que os dispositivos/sistemas a serem utilizados sejam os mais simples e limpos possíveis, a fim de facilitar a biocompatibilidade. A vantagem de uso da voltametria cíclica consiste no fato de que o método eletroquímico permite a formação de hidrogel sem utilização do agente químico ativador, sendo um método muito simples de operar e pode ser feito a temperatura ambiente.

A eletrossíntese de um hidrogel por VC, usando-se persulfato de amônio (APS) como iniciador, inicia-se na superfície metálica do eletrodo de trabalho, no potencial catódico (neste trabalho o eletrodo de Prata) pela dissociação do persulfato (iniciador) na superfície do eletrodo (YIN, ZHANG, *et al.*, 2009) (THIPMONTA, 2013).

Bunsow e Johannsmann sintetizaram hidrogéis de Pnipam eletroquimicamente e estudaram a influência do eletrólito suporte na espessura e morfologia dos hidrogéis formados. Utilizaram para tanto, cristal de quartzo revestido de ouro como eletrodo de trabalho, na faixa de potencial de 0 a -1V, numa velocidade de varredura de  $10 mV s^{-1}$ , por 2 a 3 horas. Como eletrólito suporte foram utilizados sulfato de amônia, nitrato de amônio ou perclorato de amônio. Foi observado que a morfologia de superfície e a espessura dos filmes de Pnipam formados dependiam da natureza e da concentração do eletrólito suporte. A espessura dos hidrogéis formados aumentava com o aumento da concentração de sal no eletrólito (BUNSOW e JOHANNSMANN, 2008).

Riskin e colaboradores utilizaram a voltametria cíclica para eletropolimerizar o monômero nipam na superfície de eletrodos de ouro, incorporando ainda íons de  $Ag^+$ ,  $Hg^+$  e  $Cu^+$ . A Pnipam modificado com íons metálicos constitui um novo material que pode ser usado para dispositivos eletrônicos moleculares (RISKIN, TEL-VERED e WILLNER, 2009).

Filmes de Pnipam foram sintetizados na superfície de eletrodos de ouro através de polimerização eletroquímica, por voltametria cíclica. A oxidação eletroquímica da glicose catalisada pela glicose oxidase (GOx) e mediada por ácido ferrocenocarboxílico (Fc (COOH)) em solução pode ser modulada pela variação tanto da temperatura do meio quanto pela concentração de  $Na_2SO_4$ . Quando os filmes de Pnipam eram colocados em solução contendo a glicose (GOx) e Fc(COOH) com  $Na_2SO_4$ , o pico de oxidação em cerca de 0,64 V aumenta consideravelmente em comparação com o mesmo pico na ausência da glicose. Tal dispositivo pode ser usado para o

desenvolvimento de biossensores multissensíveis baseados na eletrocatalise enzimática, através de caracterizações fundamentadas em voltametria cíclica (SONG e HU, 2010).

## CAPÍTULO III – OBJETIVOS

---

### 3.1 – OBJETIVO GERAL

Esta tese tem como principal objetivo a obtenção de um hidrogel termosensível de Pnipam obtido através de síntese eletroquímica, por voltametria cíclica, contendo diferentes quantidades de agente reticulante, assim como a síntese verde de nanopartículas de prata, utilizando sulfato de condroitina como agente redutor e estabilizante, formando o complexo SC-NPsAg, que será incorporado à matriz polimérica de Pnipam, obtendo a formulação final Pnipam VC-SC-NPsAg. Finalmente, o trabalho visa a caracterização físico-química dos hidrogéis com diferentes graus de reticulação, do complexo formado SC-NPsAg e das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg. A formulação Pnipam-SC-NPsAg tem potencial aplicação como biomaterial de implante de preenchimento de defeitos de cartilagem.

### 3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a eletrossíntese de Poli(N-isopropilacrilamida) (Pnipam) por voltametria cíclica, com três diferentes quantidades de agente reticulante, formando os hidrogéis Pnipam VC;
- Realizar a síntese verde de nanopartículas de prata utilizando sulfato de condroitina como agente redutor e estabilizante, formando o complexo SC-NPsAg;
- Incorporar o complexo SC-NPsAg à matriz polimérica de Pnipam por mistura física em meio aquoso, formando a formulação final Pnipam VC-SC-NPsAg;
- Caracterizar a estrutura química das amostras por técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier em modo de refletância total atenuada (FTIR-ATR);

- Caracterizar termicamente as amostras por análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TGA);
- Avaliar a morfologia das amostras por microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- Caracterizar os hidrogéis de Pnipam VC por análises da cinética de intumescimento a 23 e 37°C, em meios diferentes: água, solução fisiológica NaCl 0,9% e solução tampão fosfato salino (PBS);
- Caracterizar as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg por análises da cinética de intumescimento a 23 e 37°C, em água destilada;
- Caracterizar os hidrogéis de Pnipam VC por análises de retenção de água a 40 °C;
- Determinar a temperatura de transição LCST por análises de intumescimento em função da temperatura, por medidas de transmitância e por medidas de Voltametria Cíclica;
- Avaliar o comportamento reológico dos hidrogéis de Pnipam VC bem como das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg;
- Avaliar a cinética de síntese das nanopartículas de prata (NPsAg) por análise de Espectroscopia de Absorção no Ultravioleta Visível (UV-Vis);
- Determinar o tamanho das partículas presentes no complexo SC-NPsAg por técnica de difração a laser;
- Realizar estudos da cinética de liberação das NPsAg em meio aquoso, em 23 °C e 37 °C.

## CAPÍTULO IV - MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 4.1 - MATERIAIS

Para a síntese dos hidrogéis de Pnipam foram utilizados o monômero N-isopropilacrilamida (Nipam), o iniciador persulfato de amônio (APS), iniciador e o agente reticulante N,N'-metileno(bis)acrilamida (MBAAm), todos da Sigma-Aldrich. O sulfato de condroitina (SC) foi obtido na empresa Bioflora. A solução tampão fosfato salino (PBS) utilizada é composta por cloreto de sódio 99% (NaCl) da Impese; cloreto de potássio 99,5% (KCl) e fosfato dissódico 99% (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) ambos da Dinâmica Química Contemporânea Ltda e fosfato monopotássico 99,9% (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), da Impese. A solução fisiológica (NaCl 0,9%), utilizada no intumescimento foi obtida da Farmax. As medidas de VC foram realizadas utilizando solução de ferricianeto de potássio (K<sub>3</sub>[Fe (CN)<sub>6</sub>], da Sigma-Aldrich. Para a produção das NPsAg foi utilizado Nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>), da Vetec química Fina. Os materiais foram usados como recebidos.

A síntese dos hidrogéis de Pnipam foram realizadas em um Potenciostato/Galvanostato Omnimetra Instrumentos modelo PG39M (Figura 20)



Figura 20: Potenciostato/Galvanostato Omnimetra Instrumentos utilizado para polimerização e caracterização (Foto do autor).

## 4.2 - METODOLOGIA

### 4.2.1 – ELETROSSÍNTESE DO HIDROGEL PNIPAM VC

A polimerização eletroquímica foi realizada por voltametria cíclica utilizando soluções aquosas do monômero Nipam ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ), do iniciador APS ( $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ ) e do agente reticulante MBAAm ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) com velocidade de varreduras de  $100 \text{ mV s}^{-1}$  entre  $-0,1$  e  $-1,3\text{V}$ , usando prata como eletrodo de trabalho, platina como contra-eletrodo e eletrodo de Ag/AgCl como referência, por 50 ciclos. Foram utilizados moldes cilíndricos na polimerização. Após formação do hidrogel, o mesmo foi coletado e realizado processos sucessivos de lavagem em água destilada a  $50^\circ\text{C}$  e secagem em estufa na mesma temperatura.

Os hidrogéis foram preparados variando-se a razão molar monômero/reticulante, Nipam/MBAAm, e os hidrogéis formados nomeados Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, conforme Tabela 1.

Tabela 1: Volumes (em mL) das soluções utilizados na síntese de cada hidrogel de Pnipam VC

PNIPAM	VC 1	VC 2	VC 3
Nipam $1 \text{ mol L}^{-1}$	4	3	2
APS $0,25 \text{ mol L}^{-1}$	3	3	3
MBAAm $0,04 \text{ mol L}^{-1}$	3	4	5
Volume Total	10	10	10

A fração mássica de polímero no volume reacional foi calculada pela quantidade de material polimerizável dividido pela massa total, segundo Equação 16 (POSCHLAD e ENDERS, 2011):

$$\xi_{\text{gel}} = \frac{(m_C + m_{\text{mono}})}{(m_C + m_{\text{mono}} + m_W)} \quad (16)$$

onde  $m_C$  é a massa de agente reticulante,  $m_{\text{mono}}$  a massa de monômero e  $m_W$  a massa dos demais reagentes.

A fração molar de reticulante  $y_C$  pode ser expressa por:

$$y_C = \frac{n_C}{n_C + n_{\text{mono}}} \quad (17)$$

onde  $n_C$  é o número de mols do agente reticulante,  $n_{\text{mono}}$  o número de mols do monômero.

A fração mássica dos polímeros no volume reacional e a fração molar de reticulante  $y_C$ , calculadas a partir das Equações 16 e 17, respectivamente, são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Valores da fração mássica dos polímeros e fração molar de reticulante.

	$\xi$	$y_C$
<b>Pnipam VC1</b>	0,72	0,032
<b>Pnipam VC2</b>	0,68	0,052
<b>Pnipam VC3</b>	0,60	0,093

#### 4.2.2 - SÍNTESE DO COMPLEXO SULFATO DE CONDROITINA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA (SC-NPsAg)

A massa molar do SC foi determinada por viscosimetria de solução diluída, a 25°C, usando a equação de Mark – Houwink - Sakurada  $[\eta] = kM^a$ . Os valores de  $k$  e  $a$  usados foram de  $5 \times 10^{-8} \text{ L g}^{-1}$  e 1,14, respectivamente. O valor da massa molar média viscosimétrica  $M_v$  encontrada foi de  $1,39 \times 10^4 \text{ Da}$ .

O complexo formado por SC e NPsAg (SC-NPsAg) foi obtido pela redução de íons prata ( $\text{Ag}^+$ ) em solução aquosa usando o SC como agente redutor e estabilizador. Uma solução aquosa de nitrato de prata e SC foi mantida em agitação, a 800rpm, a uma temperatura de 80°C, por 4 dias. Em determinados intervalos de tempo, alíquotas da reação de mistura foram colhidas para estudo da cinética de formação das nanopartículas através de ressonância de plasmon de superfície (SPR – Surface Plasmon Resonance). Após o tempo determinado, a solução foi congelada e liofilizada. Após a liofilização, obtemos o pó do complexo, conforme mostra a Figura 21.



Figura 21: Complexo SC-NPsAg após liofilização.

#### **4.2.3 – SÍNTESE DA FORMULAÇÃO PNIPAM VC– SULFATO DE CONDROITINA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA (PNIPAM VC-SC-NPsAg)**

As formulações Pnipam VC-SC-NPsAg foram preparadas usando a razão Pnipam/SC-NPsAg 70/30. A incorporação do complexo SC-NPsAg à matriz polimérica de Pnipam foi feita através de intumescimento dos hidrogéis nas correspondentes soluções aquosas do complexo por 48 h (Figura 22). Após o intumescimento as amostras foram liofilizadas em liofilizador LJJ04 da JJ Científica, do Centro de Estudos de Investigação e Inovação de Biomateriais da Unifei.



Figura 22: Hidrogéis de Pnipam VC em processo de intumescimento com a solução de SC-NPsAg.

## **4.3 - TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO**

### **4.3.1 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR-ATR)**

A espectroscopia no infravermelho é baseada no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas que correspondem aos níveis de energia das moléculas ou níveis vibracionais. Esses níveis dependem da geometria molecular, massa dos átomos e acoplamento de vibrações. Quando uma molécula recebe uma radiação eletromagnética com a mesma energia de uma dessas vibrações, a luz é absorvida somente se a molécula sofre alguma variação no seu momento de dipolo durante essa vibração (SKOOG e HOLLER, 2009).

Na técnica FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) ou espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier a luz infravermelha é guiada através de um interferômetro. Depois de passar pela amostra o sinal medido é o interferograma. Através de uma

transformada de Fourier no sinal obtém-se um espectro semelhante ao da espectroscopia infravermelha dispersiva (SKOOG, WEST, *et al.*, 2006).

As medidas de FTIR foram obtidas em Espectrômetro da Perkin Elmer, modelo Spectrum 100 Series, abrangendo a região de 650–4000  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$ , e utilizando um acessório de refletância total atenuada (ATR). Este acessório é constituído por um cristal misto de Diamante/ZnSe. Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente, com amostras em forma de pó.

### **4.3.2 - ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-Vis)**

Espectroscopia UV-Vis se refere à análise da absorção de luz por uma amostra, isto é, absorção eletrônica. Uma luz na faixa do espectro ultravioleta e/ou visível é passada pela amostra, enquanto a quantidade de luz absorvida é medida através de um espectrofotômetro. As bandas de absorção estão relacionadas com as transições eletrônicas causadas pela interação da radiação eletromagnética com os elétrons da amostra. A absorção de energia faz com que os elétrons de orbitais do estado fundamental sejam promovidos a orbitais de maior energia em um estado excitado. Quando esse elétron retorna ao seu estado fundamental, libera exatamente a mesma energia absorvida. O espectrofotômetro é capaz de medir essa quantidade de energia que é absorvida em cada comprimento de onda.

A evolução gradual de formação das nanopartículas de prata foi monitorada usando espectroscopia UV-Vis. Em tempos pré determinados, foram retiradas alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  da solução reacional e então diluídas em 2 mL de água destilada, realizando-se então a varredura do espectro. O espectro de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) foi obtido em espectrofotômetro UV-Vis Varian, modelo Cary 50 Bio, na faixa de 220 a 800 nm, com resolução de 1 nm, utilizando cubeta de quartzo.

### 4.3.3 - ANÁLISE TÉRMICA

As análises térmicas das amostras foram realizadas por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e por análises termogravimétricas (TGA).

A técnica DSC permite determinar a diferença de energia entre a amostra e um material de referência, enquanto ambos são aquecidos ou resfriados de acordo com a análise a ser feita. Dentre as aplicações estão a determinação qualitativa e quantitativa de transições de fases como transição vítrea,  $T_g$ , temperaturas de fusão, cristalização e de decomposição, além do estudo da cinética de polimerização.

As análises de DSC foram realizadas em equipamento DSC Shimadzu 60 Plus. Foram utilizados cerca de 10 mg de cada hidrogel nas análises, usando cadinho de alumínio hermeticamente fechado. As amostras foram inicialmente aquecidas a 180 °C a uma taxa de 10 °C  $\text{min}^{-1}$ , então resfriadas a 25 °C a uma taxa de 20 °C  $\text{min}^{-1}$ . Seguidamente, foram realizadas as varreduras sob aquecimento a partir da temperatura ambiente até 230 °C, com uma taxa de 10 °C  $\text{min}^{-1}$ . O primeiro ciclo de aquecimento serve para eliminação de qualquer solvente, umidade e história térmica nas amostras. Todas as varreduras foram feitas sob atmosfera de nitrogênio a uma vazão de 25  $\text{ml min}^{-1}$ .

A análise termogravimétrica (TGA) é definida como um processo contínuo que envolve a medida de variação de massa de uma amostra em função da temperatura, ou do tempo, enquanto a temperatura da amostra é aumentada, geralmente linearmente com o tempo. O resultado da análise é, em geral, mostrado sob a forma de um gráfico, chamado de termograma ou curva de decomposição térmica, cuja abscissa contém os registros de temperatura e a ordenada o percentual de massa perdido (FERNANDES, 2009).

Os termogramas foram obtidos em um analisador termogravimétrico TGA-50 da Shimadzu. As amostras foram submetidas a uma velocidade de aquecimento controlada e a variação de massa foi monitorada em função da temperatura. A análise termogravimétrica foi realizada com uma taxa de aquecimento de 20 °C  $\text{min}^{-1}$ , de 25 °C à 600 °C, utilizando-se atmosfera de nitrogênio e em cadinho de alumina.

#### 4.3.4 - ESTUDO DE INTUMESCIMENTO

Os estudos de intumescimento dos hidrogéis de Pnipam e das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg foram realizados através de medidas gravimétricas a temperaturas de 23 e 37°C. As amostras secas foram colocadas para intumescer em seus respectivos meios, removidas da solução em intervalos regulares e superficialmente secas com papel, pesadas em balança analítica e colocadas novamente em solução. As medidas foram realizadas até o equilíbrio de intumescimento ser atingido. O grau de intumescimento e a cinética de intumescimento foram determinados a partir das Equações 1, 2, 6, 8 e 10.

A cinética de intumescimento dos hidrogéis de Pnipam foram realizadas em três soluções distintas: água, solução fisiológica NaCl 0,9 % e em solução tampão fosfato salino (PBS, pH 6,8). Para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg foi utilizada água como meio de intumescimento.

#### 4.3.5 - ESTUDO DA CINÉTICA DE DESINTUMESCIMENTO

Para avaliar a resposta do material ao estímulo temperatura foi realizado o estudo de desintumescimento dos hidrogéis de Pnipam VC ou também chamado de análise de retenção de água. A velocidade de resposta pode ser determinada submetendo o hidrogel totalmente intumescido a uma diferença de temperatura e realizando sucessivas medidas de massa do mesmo. Hidrogéis com respostas rápidas perdem grandes quantidades de água em pequenos intervalos de tempo (COLI, 2013).

As amostras foram intumescidas em três meios distintos: água, solução fisiológica NaCl 0,9 % e solução tampão PBS, todos a 23 °C. Após o equilíbrio, os hidrogéis foram colocados nas respectivas soluções a 45 °C. Em intervalos de tempos pré-determinados as amostras foram retiradas das soluções, colocadas em papel para retirar o excesso de solução e então pesadas. O desintumescimento dos hidrogéis foi determinado pela diminuição do conteúdo de água das amostras. A razão de desintumescimento foi definida como (VARGHESE, ISMAIL, *et al.*, 2008), (ALLI e HAZER, 2008) (ZHAO, LI, *et al.*, 2008):

$$RD = \frac{(M_t - M_{e,45})}{(M_{23} - M_{e,45})} = -k_d t \quad (18)$$

onde  $M_t$  é a massa do hidrogel no tempo  $t$ ;  $M_{23}$  é a massa do hidrogel no equilíbrio a 23°C,  $M_{e45}$  é a massa do hidrogel no equilíbrio a 45°C e  $k_d$  é a constante de desintumescimento.

A perda de água (%) foi definida como:

$$PA = \left( \frac{M_t}{M_{23}} \right) * 100 \quad (19)$$

#### **4.3.6 – DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO DE FASES LCST**

A temperatura de transição de fases LCST dos hidrogéis de Pnipam VC foi determinada de três maneiras distintas. Foram realizados estudos de intumescimento em função da temperatura, medidas de transmitância e estudos por Voltametria Cíclica.

##### **4.3.6.1 - INTUMESCIMENTO EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA**

Para avaliar a temperatura de transição de fases realizamos o estudo de intumescimento em função da temperatura, através de método gravimétrico. Os hidrogéis de Pnipam VC foram imersos em água e deixados intumescer por 24 h, e a variação de massa determinada por medidas da massa do hidrogel a determinada temperatura. As medidas de intumescimento foram realizadas na faixa de temperatura de 20 a 45 °C. Os valores de intumescimento foram calculados conforme Equação 1.

#### 4.3.6.2 - MEDIDAS DE TRANSMITÂNCIA

A temperatura de transição de fases, LCST, dos hidrogéis foi determinada usando espectrofotômetro UV-Vis Cary 50, em 500 nm. Os hidrogéis foram intumescidos em água destilada em tubos cilíndricos e colocados em banho termostatizado Schott CT52. A temperatura da solução foi variada de 20 a 45°C, sendo controlada por termômetro digital com sensor termopar tipo K (Figura 23). A temperatura de transição LCST foi determinada no *onset* da curva transmitância versus temperatura.

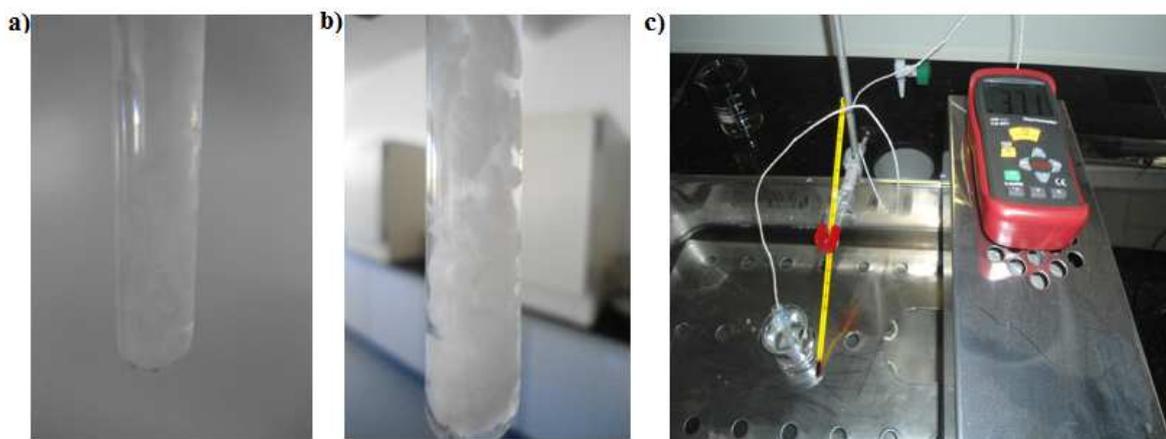


Figura 23: Determinação da LCST por medidas de transmitância; a) PnIPam a 20°C; b) PnIPam a 45°C, c) Equipamentos utilizados. Fotografias do autor.

#### 4.3.6.3 - MEDIDAS POR VOLTAMETRIA CÍCLICA

A temperatura LCST foi obtida por medidas de voltametria cíclica (VC). Os hidrogéis foram intumescidos em solução de ferricianeto  $1,8 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ , em solução de KCl. A temperatura foi variada de 15 a 45°C, sendo controlada por termômetro digital com sensor termopar. Os voltamogramas foram obtidos na faixa de potencial de 0 a 0,6V, a uma velocidade de varredura de  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ , usando fios de platina como eletrodo de trabalho e contra-eletrodo e um eletrodo de Ag/AgCl como referência (Figura 24).



Figura 24: Fotografia ilustrativa da montagem utilizada para determinação da temperatura de transição LCST por VC.

#### **4.3.7 - ANÁLISE DO TAMANHO DE PARTÍCULAS**

A medição de tamanho de partícula por difração de luz foi utilizada para se avaliar a distribuição de tamanhos do complexo SC-NPsAg. Nesta técnica são empregados feixes de raio laser que entram em contato com as partículas e o resultado da luz difundida fornece os valores da distribuição dos tamanhos das partículas. Quando uma partícula atravessa um feixe laser, um espalhamento de luz em ângulo acontece, sendo inversamente proporcional ao seu tamanho, sendo que partículas menores espalham ângulos maiores e partículas maiores para ângulos menores.

A análise de tamanho das partículas do complexo SC-NPsAg foi feita em Analisador de Tamanho de Partícula da marca Microtrac Turbotrac Bluewave, do Laboratório de Caracterização Estrutural da Unifei.

#### **4.3.8 - ESTUDO DA LIBERAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NPsAg)**

O estudo da liberação de nanopartículas de prata (NPsAg) foi realizado através de espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-Vis), utilizando cubeta de quartzo. As amostras de Pnipam VC-SC-NPsAg foram imersas em 3 ml de água deionizada e mantidas a 23

°C e em 37 °C. Em intervalos predeterminados de tempo a liberação de NPsAg foi analisada por varreduras do espectro UV-Vis.

Soluções conhecidas de diferentes concentrações do complexo SC-NPsAg em água foram preparadas como padrão para obtenção de curva de calibração, a fim de se obter a posterior determinação da concentração de Ag e SC nas amostras coletadas.

Soluções com concentrações conhecidas do complexo SC-NPsAg foram preparadas como padrão para se obter uma curva de calibração linear no equipamento e permitir a determinação da concentração de NPsAg nas amostras coletadas.

#### **4.3.9 - ENSAIOS REOLÓGICOS**

A análise do comportamento reológico de hidrogéis é útil na caracterização de sistemas injetáveis, para melhor compreensão do fenômeno de transição. Um gel exibe um comportamento viscoelástico, possuindo, portanto, características de um líquido puramente viscoso e de um sólido elástico puro. Os fluidos não resistem a uma tensão tangencial, deformando-se imediatamente, enquanto os sólidos se deformam parcialmente até atingirem o equilíbrio. A energia necessária para a deformação é dissipada pelo líquido na forma de calor, não sendo recuperada, enquanto que para os sólidos elásticos a energia é armazenada e posteriormente readquirida na totalidade, desde que não ultrapasse o limite da região elástica.

Considerando o caso clássico de um fluido contido entre duas placas paralelas, de área  $A$ , separadas por uma distância  $h$ , sendo que a placa inferior é estacionária. Aplicando uma força tangencial  $F$  à placa superior, esta entra em movimento, atingindo a velocidade  $U$  constante, conforme Figura 25.

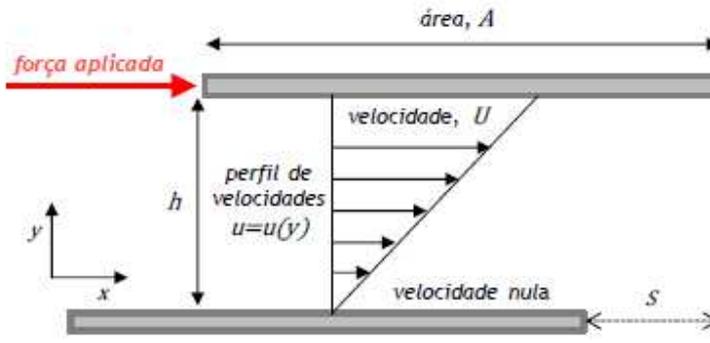


Figura 25: Representação do modelo de duas placas paralelas. Adaptado de (DE MOURA, 2014).

Devido ao atrito interno, surge outra força com a mesma intensidade mas de sentido contrário. A tensão é definida como sendo a força por unidade de área. Considerando que as camadas de fluido junto às placas têm a mesma velocidade, surge um gradiente de velocidade ao longo da direção  $y$ , ou denominada velocidade de deformação:

$$\dot{\gamma} = \frac{du}{dy} \quad (20)$$

Para fluidos newtonianos temos que a tensão é diretamente proporcional à velocidade de deformação:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (21)$$

sendo  $\eta$  a viscosidade, valor da intensidade da agitação permanente entre as partículas do fluido, que mede a resistência do fluido ao escoamento. Considerando agora um sólido elástico em vez de fluido, observa-se uma deformação  $\gamma$  definida como:

$$\gamma = \frac{s}{h} \quad (22)$$

Nos sólidos ocorre uma relação entre a tensão e a deformação, Lei de Hooke, expressa por:

$$\tau = E\gamma \quad (23)$$

onde E é o módulo de Young ou módulo de elasticidade. O comportamento elástico de um sólido depende das forças intermoleculares que mantém a integridade dos seus constituintes. Ao aplicar uma tensão sobre um material, as ligações entre as moléculas sofrem compressão ou expansão, ocasionando o armazenamento de energia. Cessando a tensão, as ligações liberam a energia armazenada e o material volta a sua forma inicial.

Materiais viscoelásticos exibem uma componente viscosa, relativo a lei de Newton para a viscosidade e uma componente elástica correspondente a lei de Hooke. Quando submetidos a uma tensão constante entram em escoamento mas armazenam parte da energia fornecida. Após cessar o estímulo, exibem recuperação da forma, mesmo que não totalmente.

Ensaio reológicos feitos em modo oscilatório permitem caracterizar a amostra quanto a sua capacidade elástica ou de armazenamento de energia,  $G'$ , e quanto a sua capacidade viscosa, através do modulo viscoso ou dissipativo,  $G''$ , em função da frequência angular  $\omega$ .

Os estudos reológicos das amostras foram conduzidos em reômetro Physica MCR 301 Anton Paar, com geometria placa-placa 50 mm.

Foram realizados ensaios oscilatórios em rampa de aquecimento de 20 a 40 °C. A deformação foi mantida em 0,01% e frequência angular de 10 rad s<sup>-1</sup>. A evolução dos módulos de perda ( $G''$ ) e armazenamento ( $G'$ ) foi avaliada durante a rampa de aquecimento.

O controle da temperatura é realizado pelo próprio instrumento, através de sistema Peltier ligado a um banho de circulação. Para evitar problemas de perdas por evaporação da água foi adicionada água no anel externo da geometria.

#### **4.3.10- MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)**

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica de caracterização que permite a criação de imagens da superfície de amostras com alta resolução. As imagens são produzidas usando feixe de elétrons em vez de uma radiação de luz. O princípio de funcionamento do MEV consiste na emissão de feixes de elétrons por um filamento de tungstênio (eletrodo negativo),

mediante a aplicação de uma diferença de potencial que pode variar de 0,5 a 30kV. Essa variação de voltagem permite a variação da aceleração dos elétrons, e também provoca o aquecimento do filamento. A parte positiva em relação ao filamento do microscópio (eletrodo positivo) atrai fortemente os elétrons gerados, resultando numa aceleração em direção ao eletrodo positivo. A correção do percurso dos feixes é realizada pelas lentes condensadoras que alinham os feixes em direção à abertura da objetiva. A objetiva ajusta o foco dos feixes de elétrons antes de atingirem a amostra analisada (CALLISTER, 2002).

A análise por energia dispersiva de Raios X, ou EDS – *energy dispersive x-ray detector*, é um detector de energia dispersiva que é acoplado ao MEV, sendo importante na análise química de materiais orgânicos e inorgânicos. A análise é feita através da identificação dos raios X emitidos pela amostra, resultantes da interação com o feixe eletrônico, sendo possível determinar a composição de regiões com até 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro com grande rapidez.

Elétrons mais externos dos átomos e os íons constituintes são excitados e mudam de nível energético quando um feixe de elétrons incide sobre um material. Ao retornarem para o estado de energia inicial, liberam a energia adquirida que é emitida com um comprimento de onda específico no espectro de raios x. Um detector instalado na câmara de vácuo do MEV é usado para medir a energia associada a esse elétron. Como os elétrons de um determinado átomo possuem energias distintas, é possível determinar quais os elementos químicos presentes no material (DEDAVID, GOMES e MACHADO, 2007).

A microscopia eletrônica foi utilizada para estudar a morfologia dos hidrogéis de Pnipam VC, do SC e do complexo SC-NPsAg, bem como das formulações finais Pnipam VC-SC-NPsAg. A análise por energia dispersiva de raios x foi utilizada para confirmar a presença de prata metálica no complexo SC-NPsAg e nas formulações finais Pnipam VC-SC-NPsAg. As micrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura MEV Zeiss EVO MA15, instalado no Laboratório de Caracterização Estrutural da Unifei.

## CAPÍTULO V - RESULTADOS E DISCUSSÕES

---

### 5.1 – PNIPAM VC

#### 5.1.1 - ELETROSSÍNTESE

A eletrossíntese de hidrogéis de Pnipam foi realizada através de técnica de voltametria cíclica (VC), considerada uma forma fácil e versátil de polimerização (THIPMONTA, 2013) Inicialmente, foi feita VC numa faixa de potencial de -0,3 a 0,8 V, potencial oxidativo, com velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ . Houve polimerização imediata, porém também ocorreu deposição de um material de coloração acinzentada, provavelmente algum óxido de prata, advinda do eletrodo de trabalho, ficando no polímero e deixando-o também com coloração acinzentada, conforme mostra a Figura 26. A conversão obtida foi muito baixa e o polímero obtido fica sem forma definida.

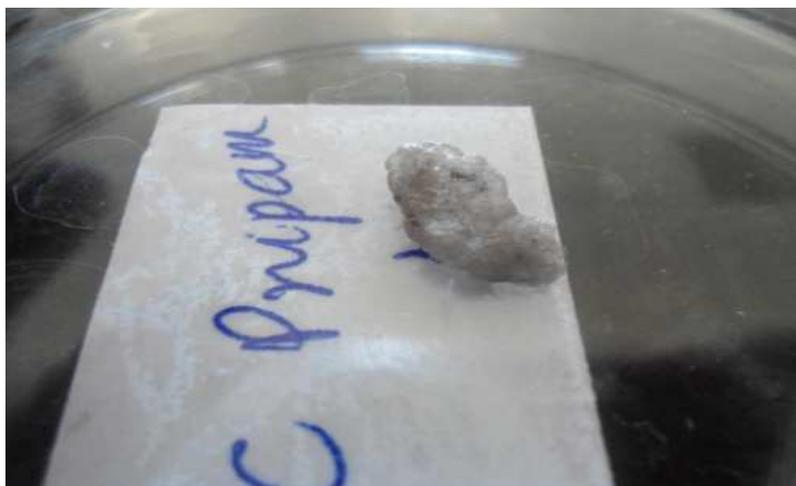


Figura 26: Pnipam obtido por Voltametria Cíclica na faixa de potencial de -0,3 a 0,8 V, com velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ .

O voltamograma obtido da polimerização nesta faixa de potencial pode ser visualizado na Figura 27. O voltamograma possui picos de corrente anódicos e catódicos bem definidos. Os picos

de corrente catódicas diminuem com o aumento do número de ciclos, deslocando-se para menores potenciais e os anódicos aumentam, deslocando-se para maiores potenciais.

Observa-se um pico anódico em aproximadamente 0,55V e um pico catódico em cerca de 0,15 V. Sugere-se que o voltamograma deve corresponder ao processo redox de algum óxido ou sulfeto de prata formado durante a síntese nessa faixa de potencial, que foi sendo depositado no eletrodo e conseqüentemente no polímero (WANG, LI, *et al.*, 2004) (MEHL, 2011).

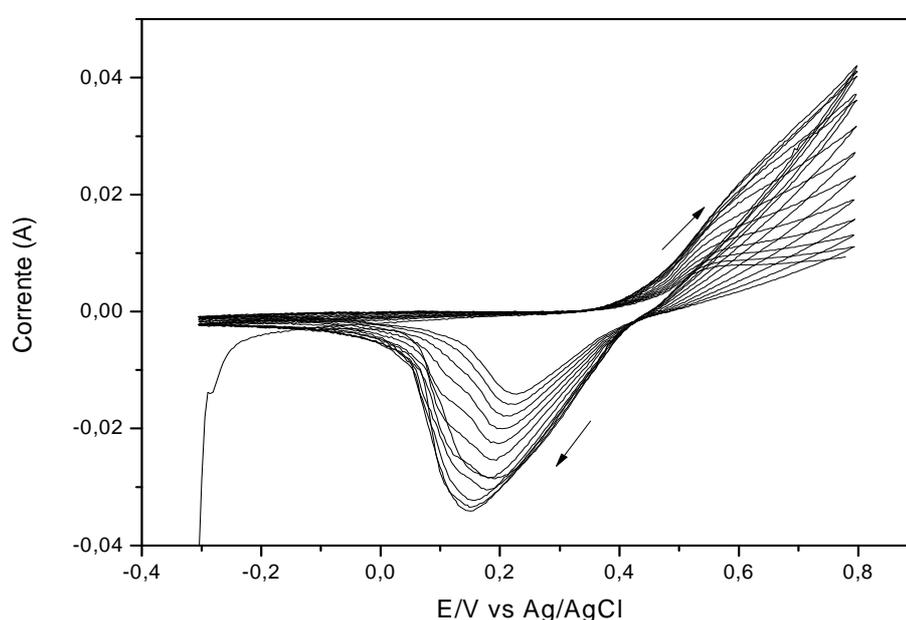


Figura 27: Voltamograma de síntese da Pnipam na faixa de potencial de -0,3 a 0,8V, com velocidade de varredura de  $10\text{mV s}^{-1}$ .

Optou-se, então, por realizar a eletrossíntese da Pnipam por VC na faixa de potencial, de  $-0,1$  a  $-1,3$  V, faixa de potencial redutivo. A Figura 28, correspondente a VC do iniciador APS. Observa-se um pico de corrente anódico em cerca de  $-0,72$  V, que praticamente não é alterado conforme aumenta o número de ciclos. Este potencial é considerado o potencial de redução eletroquímica do ânion persulfato, de  $-0,8$  V relativo ao eletrodo de referência Ag/AgCl (THIPMONTA, 2013). Porém, observa-se a diminuição do valor da corrente de pico anódico como número de ciclos, o que sugere que a redução do persulfato não é reversível.

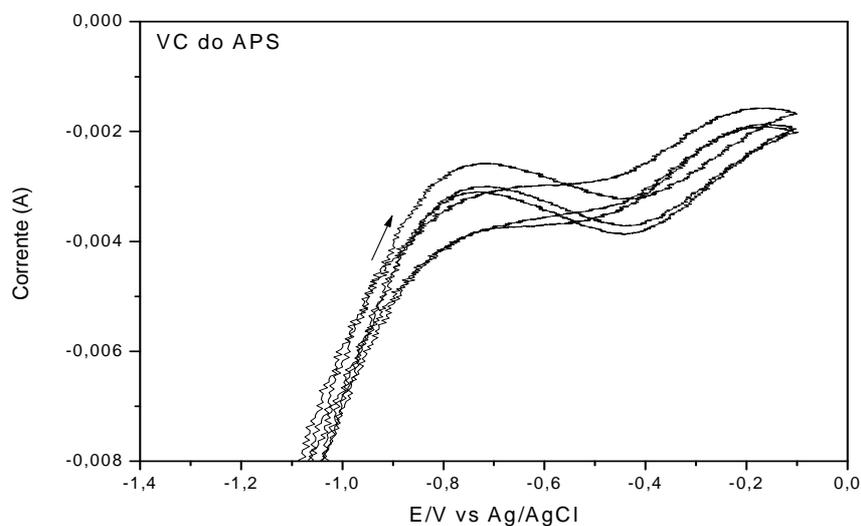


Figura 28: Voltamograma do iniciador persulfato de amônio (APS), na faixa de potencial de -0,1 a -1,3 V, com velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando prata como eletrodo de trabalho, Pt como contra-eletrodo e Ag/AgCl como eletrodo de referência.

A voltametria cíclica do persulfato (APS) na presença do monômero permitiu a obtenção de um hidrogel de aspecto homogêneo, transparente, sem alterações de cor e sem impurezas, com forma definida e consistente, conforme pode ser visto na Figura 29. O rendimento dos hidrogéis de Pnipam foi calculado através da relação entre a massa do hidrogel seco e a massa total (Nipam + MBAAm) adicionada no sistema de reação. O rendimento da síntese de hidrogéis de Pnipam por voltametria cíclica foi, em média, de 78%.

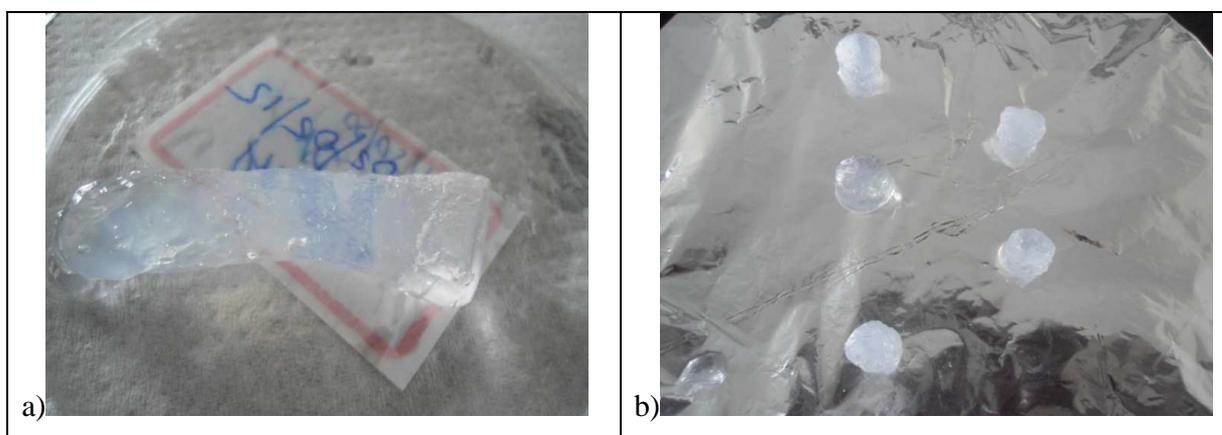
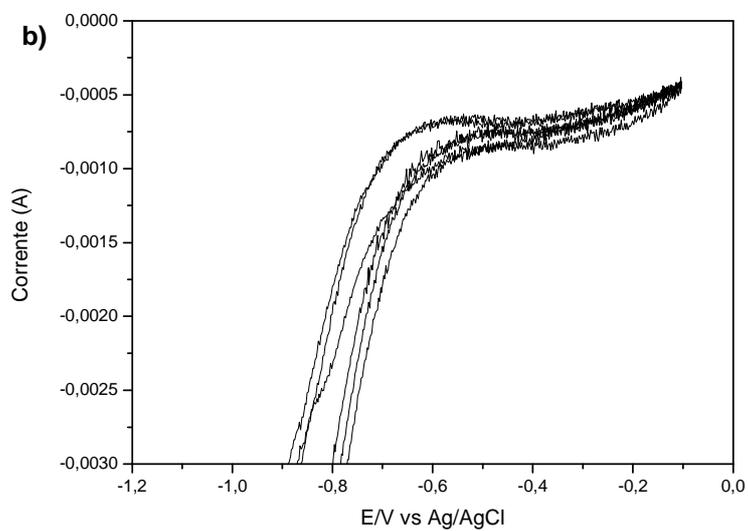
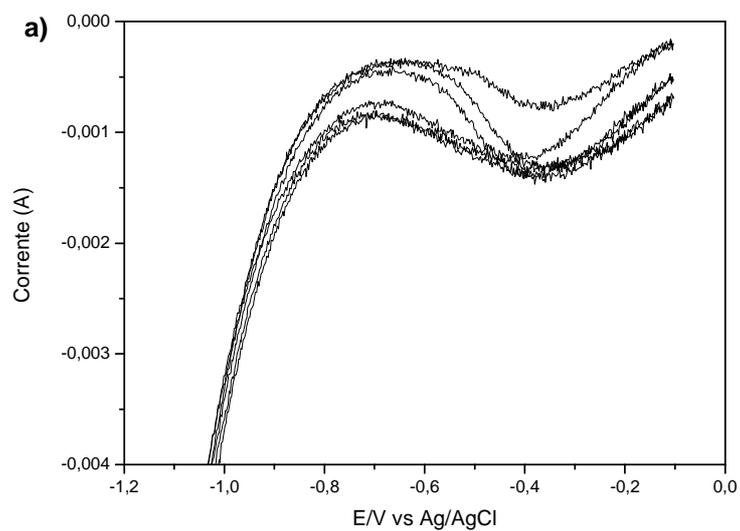


Figura 29: a) Pnipam obtida por VC na faixa de potencial de -0,1 a -1,3V, com velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando molde cilíndrico; b) Pnipam cortado em cilindros menores.

Nessa polimerização, não houve deposição de prata advinda do eletrodo. Na Figura 30 a, b e c são mostrados, respectivamente, os voltamogramas obtidos na polimerização da Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3.



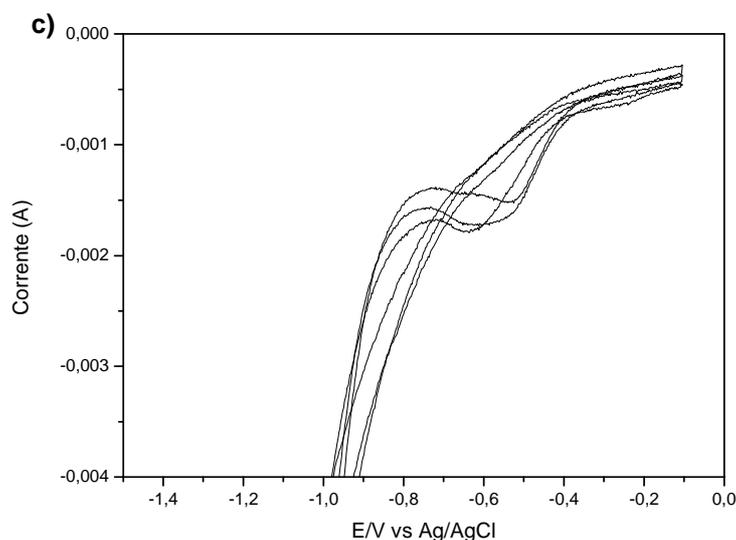


Figura 30: Voltamogramas de síntese dos hidrogéis a) Pnipam VC1, b) Pnipam VC2 e c) Pnipam VC3, na faixa de potencial de -0,1 a -1,3 V, com velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando prata como eletrodo de trabalho, Pt como contra-eletrodo e Ag/AgCl como eletrodo de referência.

Observou-se na síntese da Pnipam VC1 e da Pnipam VC3, de maneira mais definida, o pico de corrente catódico, referente à redução do persulfato. O valor da corrente de pico catódico diminui e desloca-se a maiores potenciais conforme aumento do número de ciclos, indicando que o coeficiente de difusão do iniciador foi reduzido devido à formação do polímero (THIPMONTA, 2013). Para a Pnipam VC1 o pico catódico foi observado em -0,45V no primeiro ciclo, enquanto que para a Pnipam VC3 o pico catódico inicial foi observado em -0,64V, ambos deslocando-se para potenciais mais negativos. Além disso, observa-se que a corrente de pico catódica diminui, indicando que a polimerização está ocorrendo e o iniciador está sendo consumido na reação (YIN, ZHANG, *et al.*, 2009).

Os íons  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$  localizados próximos ao cátodo recebem um elétron para formar  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{SO}_4^{\cdot-}$ . Em seguida, os íons radicais  $\text{SO}_4^{\cdot-}$  reagem com o monômero, iniciando a polimerização. A Figura 31 apresenta uma ilustração da formação eletroquímica de radicais livres e formação do hidrogel de Pnipam (YIN, ZHANG, *et al.*, 2009) (THIPMONTA, 2013).

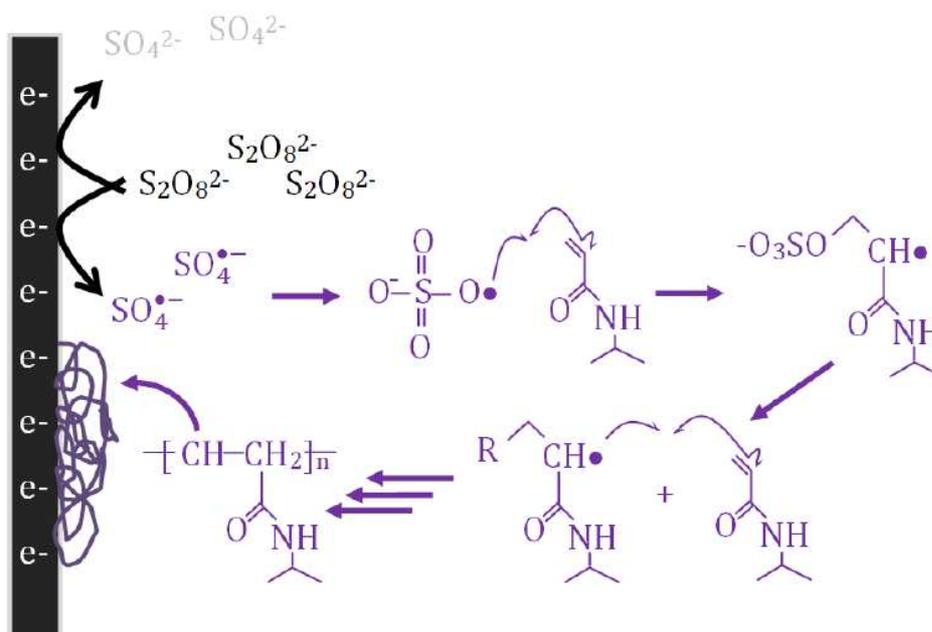
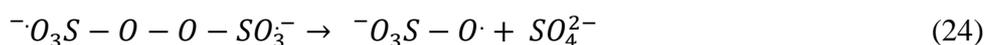


Figura 31: Produção eletroquímica de radicais livres e formação do hidrogel de PnIPam. Fonte: (THIPMONTA, 2013).

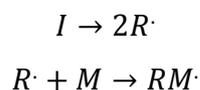
Assim, temos que a etapa de iniciação da polimerização eletroiniciada dos hidrogéis de PnIPam segue a seguinte reação:



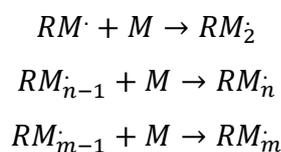
Os radicais mostrados na reação anterior podem iniciar a polimerização radicalar, seguindo o mecanismo de polimerização em cadeia (Esquema 1) (BUNSOW e JOHANNSMANN, 2008). A polimerização em cadeia é formada por etapas sucessivas, denominadas iniciação, propagação, transferência e terminação. Na etapa de iniciação é gerado o centro ativo e acontece a adição à primeira unidade monomérica. O processo de propagação envolve o crescimento da cadeia macromolecular, caracterizada por uma longa sequência de acontecimentos idênticos, isto é, a adição repetida do monômero à cadeia em crescimento. A transferência ocorre quando o centro ativo se adiciona às outras espécies presentes no sistema. A terminação é o processo da polimerização onde o crescimento da cadeia é interrompido, por desaparecimento ou transferência do centro ativo (VIEIRA, 2006).

### ESQUEMA 1 – Síntese eletroquímica

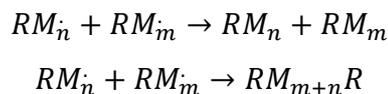
Iniciação:



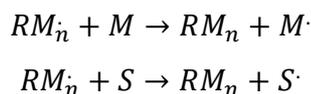
Propagação:



Terminação:



Transferência



Podemos concluir que a polimerização iniciada eletroquimicamente através da redução do iniciador segue o mecanismo proposto no Esquema 1.

### 5.1.2 - ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER – FTIR

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para caracterizar a estrutura química do monômero Nipam e dos hidrogéis de

Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3 e também das formulações Pnipam VC1/SC, Pnipam VC2/SC e Pnipam VC3/SC.

O espectro FTIR comparativo do monômero e o hidrogel Pnipam VC1 é mostrado na Figura 32 e amplificado na Figura 33a,b para melhor análise.

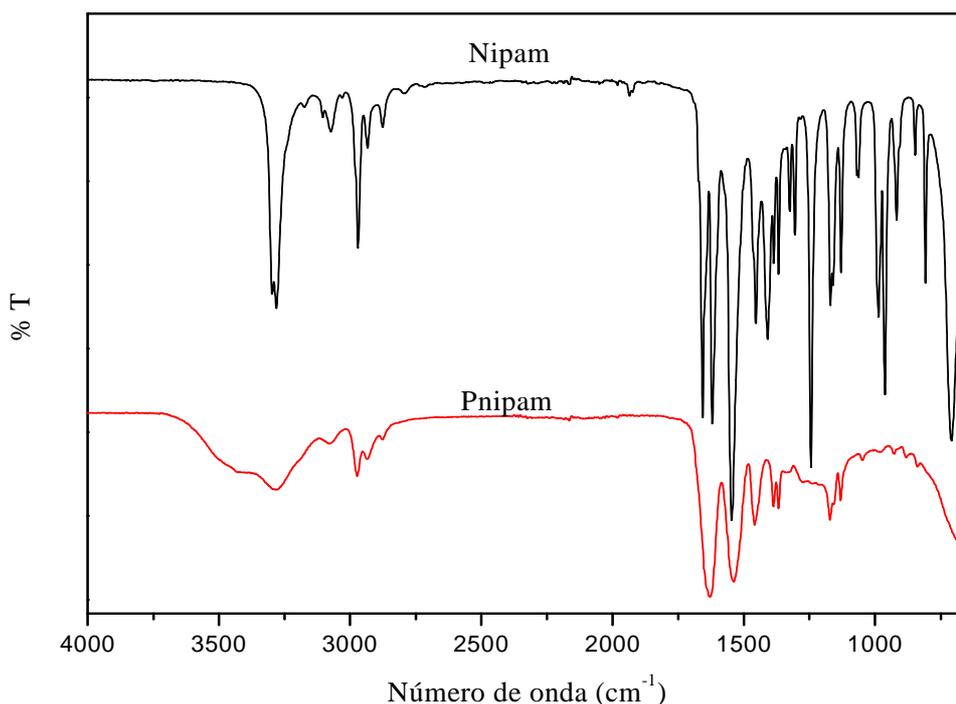


Figura 32: Espectro FTIR-ATR comparativo entre o monômero Nipam e a Pnipam VC1.

Enquanto o monômero apresenta bandas referentes às vibrações de estiramento de C=C em aproximadamente  $1620$  e  $1409\text{ cm}^{-1}$  e deformação de  $=\text{CH}_2-$  em torno de  $1454\text{ cm}^{-1}$ , bandas de estiramento de grupos vinílicos em  $990$  e  $916\text{ cm}^{-1}$ , no polímero não são observadas tais bandas (DOU, HAN, *et al.*, 2012). As bandas de estiramento de grupos carbonila de amidas secundárias e estiramento simétrico de N-H do polímero em torno de  $1628$  e  $1538\text{ cm}^{-1}$ , são mais alargadas que no monômero, provavelmente devido às interações intramoleculares do tipo ligação de hidrogênio ( $\text{C}=\text{O}\dots\text{H}-\text{N}$ ) que podem ocorrer entre as cadeias poliméricas após reação de polimerização (Figura 33a) (SANCHES, 2013).

Também, como consequência desta interação, a banda do estiramento do grupo carbonila, no polímero, aparece deslocada a um número de onda menor ( $1628\text{ cm}^{-1}$ ) que no monômero ( $1656\text{ cm}^{-1}$ ).

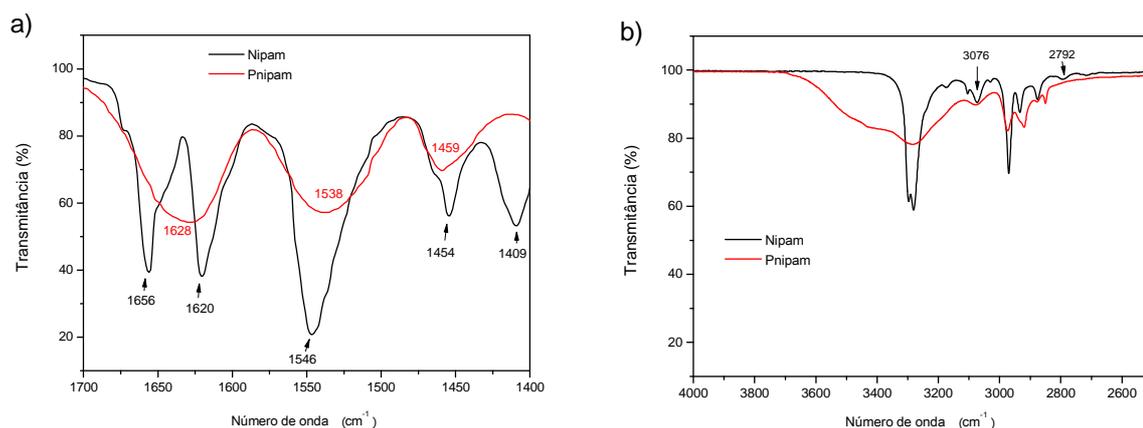


Figura 33: Espectro FTIR comparativo entre Nipam e Pnipam a) entre  $1700$  e  $1400\text{ cm}^{-1}$ ; b) entre  $4000$  e  $2500\text{ cm}^{-1}$ .

Considerando a região entre  $2500$  e  $4000\text{ cm}^{-1}$  (Figura 33b), observamos que o monômero apresenta banda com baixa intensidade em  $2792\text{ cm}^{-1}$ , atribuída às vibrações de estiramento da ligação  $=\text{C-H}$ , não observada no polímero. No polímero ocorre uma banda larga, na região entre  $3350$  e  $3700\text{ cm}^{-1}$ , relacionada às vibrações de estiramento da ligação  $\text{N-H}$ . A maior largura da banda de vibração no polímero em relação ao monômero se deve ao aumento da interação intra e intermolecular nas cadeias macromoleculares, podendo também ser consequência de absorção de água pelo polímero, aparecendo então a banda  $\text{O-H}$  entre  $3400$ - $3700\text{ cm}^{-1}$  (SOUSA, 2009). Portanto, o desaparecimento das bandas em  $1620$ ,  $1454$ ,  $1409$  e  $2792\text{ cm}^{-1}$ , demonstram o sucesso da polimerização via voltametria cíclica.

O espectro FTIR dos hidrogéis Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3 estão apresentados na Figura 34.

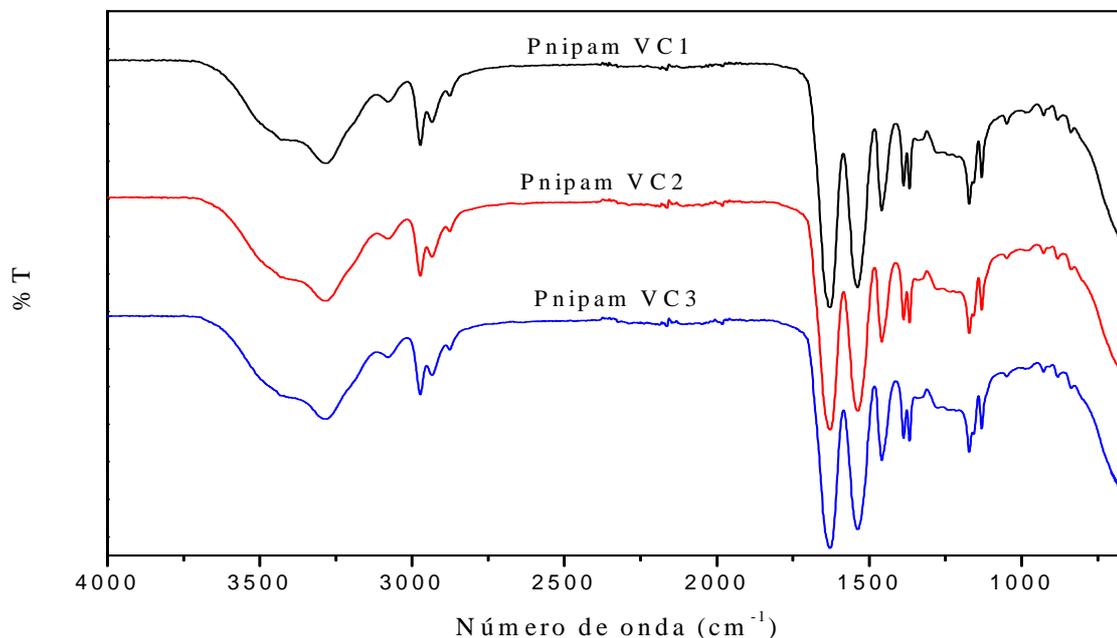


Figura 34: Espectro FTIR dos hidrogéis Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3.

O espectro FTIR dos hidrogéis de Pnipam VC mostra bandas de estiramento N-H de amidas secundárias na região de 3170-3370  $\text{cm}^{-1}$ ; bandas de absorção na região de 2875-2972  $\text{cm}^{-1}$  referentes aos modos de vibração de estiramento C-H de grupos  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$  (LAI e WU, 2010); bandas relacionadas à deformação angular no plano do grupo N-H em torno de 1540  $\text{cm}^{-1}$  (LIANG, SONG, *et al.*, 2011); bandas correspondentes às vibrações de deformação C-H de  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  em 1457  $\text{cm}^{-1}$ ; bandas características de deformação  $\text{CH}_3$  dos grupos isopropil, no intervalo de frequências de 1367-1386  $\text{cm}^{-1}$  (SUN, LIN e WU, 2007), (VARGHESE, ISMAIL, *et al.*, 2008).

A diferença entre o monômero (Nipam) e o agente reticulante MBAAm é mostrado na Figura 35 e na Tabela 3.

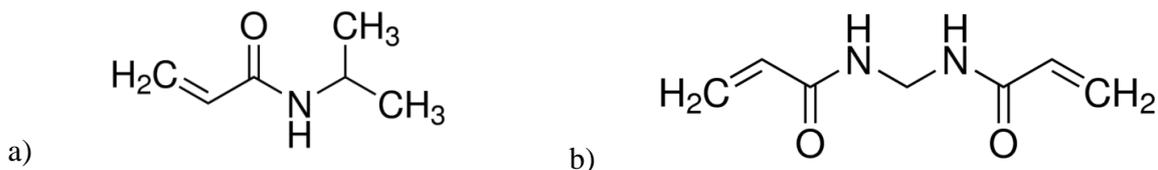


Figura 35: Representação da estrutura química a) monômero Nipam; b) agente reticulante N,N'-metilenobisacrilamida.

Tabela 3: Diferenças entre o monômero Nipam e o agente reticulante MBAAm.

	<b>Nipam</b>	<b>MBAAm</b>
<b>Funcionalidade</b>	2 (bifuncional)	4 (tetrafuncional)
<b>Grupo amida</b>	1	2

O monômero tem um grupo isopropil [ $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ] ligado ao grupo amida, enquanto o MBAAm tem um grupo metileno ( $-\text{CH}_2-$ ) entre os dois grupos amidas.

Considerando que o MBAAm tem maior funcionalidade, age como reticulante (crosslink), estabelecendo uma rede entrecruzada (JU, CHU, *et al.*, 2006). Para melhor assinalar as bandas dos espectros dos hidrogéis obtidos (Figura 36), separamos o espectro em diferentes regiões.

A reticulação dos hidrogéis por VC pode ser confirmada por FTIR. Realizamos o estudo da banda relativa à vibração da ligação  $-(\text{CH}_3)_2\text{C}-\text{H}$ , do grupo isopropil, não presente na estrutura química do agente reticulante, MBAAm. Consideramos ainda, banda relativa à Amida I,  $\text{HNC}=\text{O}$ , em  $1628\text{ cm}^{-1}$ .

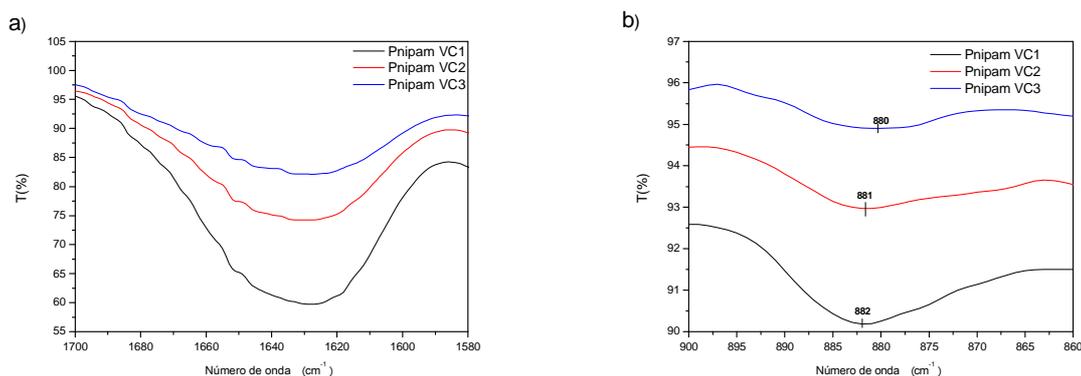


Figura 36: Espectro FTIR dos hidrogéis a) de  $1700$  a  $1580\text{ cm}^{-1}$ , relativa a vibração da ligação  $\text{HCN}=\text{O}$ , em  $1628\text{ cm}^{-1}$  e b) de  $900$  a  $860\text{ cm}^{-1}$ , relativo à vibração da ligação  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ .

A razão entre banda Amida I e a área do grupo isopropil deve aumentar conforme aumenta a quantidade de MBAAm. A Tabela 4 mostra os valores da razão C=O/C-H dos hidrogéis sintetizados eletroquimicamente por VC, comprovando o aumento da reticulação nas amostras. Observa-se que para as amostras Pnipam VC1 e Pnipam VC2 embora ocorra o aumento do grau de reticulação, ele não é tão significativo quanto para a amostra Pnipam VC3.

Tabela 4: Razão entre as áreas das bandas  $1628\text{ cm}^{-1}$  (HNC=O) e  $878\text{ cm}^{-1}$   $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$  para os hidrogéis.

	<b>Pnipam VC1</b>	<b>Pnipam VC2</b>	<b>Pnipam VC3</b>
<b>Razão C=O/C-H</b>	61,35	65,76	82,74

Sugere-se que o aumento da quantidade de agente reticulante é acompanhada da redução da quantidade de grupos isopropil do monômero, grupo de caráter mais hidrofóbico. Assim, pode-se sugerir que redes mais reticuladas possuem caráter mais hidrofílico, com maior capacidade de retenção de água.

### 5.1.3 - ANÁLISE TÉRMICA

#### 5.1.3.1 - ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

A análise termogravimétrica é um método preciso que tem sido utilizado para estudar a decomposição térmica de materiais poliméricos, sendo definida como um processo contínuo que envolve a medida de variação de massa de uma amostra em função da temperatura. O resultado é apresentado sob a forma de um gráfico de perda de massa em função da temperatura (FERNANDES, 2009) (BUNHAK, MENDES, *et al.*, 2015).

Para avaliar a estabilidade térmica e a temperatura de decomposição dos hidrogéis de Pnipam VC as curvas de TGA foram obtidas na faixa de temperatura de 25 a  $800^\circ\text{C}$ , em atmosfera dinâmica de nitrogênio e razão de aquecimento de  $20\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . A Figura 37 apresenta as curvas de TGA para os hidrogéis de Pnipam.

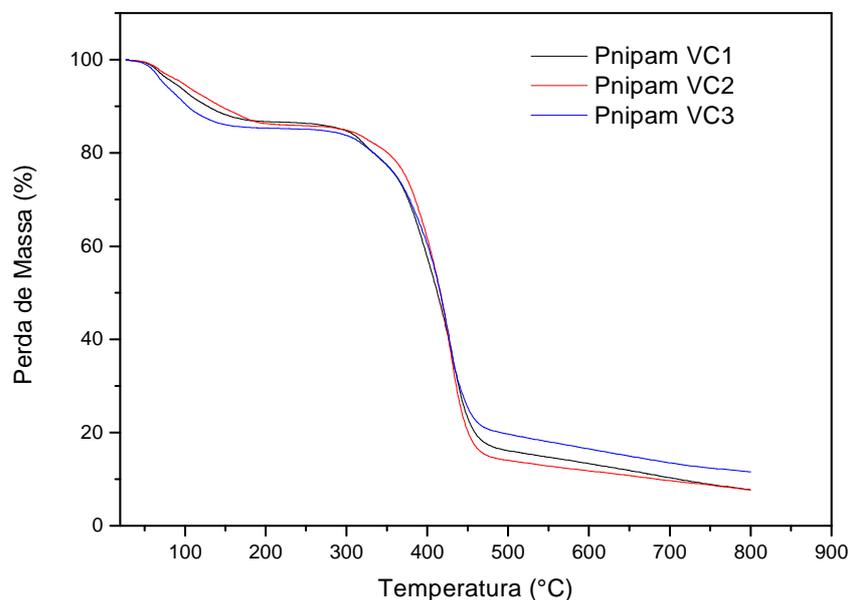


Figura 37: Curvas termogravimétricas (TG) dos hidrogéis Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3

Os dados termogravimétricos obtidos a partir das curvas TG para os hidrogéis de Pnipam estão apresentados na Tabela 5.  $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$  correspondem às faixas de temperatura, em  $^{\circ}\text{C}$  e  $P_1$ ,  $P_2$  e  $P_3$  indicam as perdas percentuais de massa dos estágios 1, 2 e 3, respectivamente.

Tabela 5: Dados termogravimétricos da Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3.

Amostra	Estágio 1		Estágio 2		Estágio 3		Massa residual (%)
	$T_1$	$P_1$	$T_2$	$P_2$	$T_3$	$P_3$	
<b>Pnipam VC1</b>	0-180	13,5	290-490	69,2	490-800	8,1	7,2
<b>Pnipam VC2</b>	0-180	13,1	285-490	71,1	490-800	5,5	7,7
<b>Pnipam VC3</b>	0-165	14,6	270-490	66,6	490-800	6,4	11,6

Observam-se três principais etapas de perda de massa para os hidrogéis. Para a Pnipam VC1 a primeira etapa está no intervalo de temperatura compreendido entre a temperatura ambiente e  $180^{\circ}\text{C}$ , com perda de massa de 13,5 %, atribuído à presença de água fisicamente adsorvida, uma vez que a Pnipam tem afinidade pela água. A Pnipam VC1 se mantém estável até  $290^{\circ}\text{C}$ , quando se inicia o processo de decomposição térmica de porções orgânicas do hidrogel, com a saída dos grupos amida da estrutura da Pnipam (SANCHES, 2013) (LI, DU, *et al.*, 2016). Essa segunda etapa, correspondendo a maior perda de massa, cerca de 69,2% da massa inicial, compreende o

intervalo de temperatura de 290°C a 490°C, com pico mais evidente de perda de massa em cerca de 432°C, conforme demonstrado nas curvas de termogravimetria derivada - DTG, apresentado na Figura 38. Provavelmente devido à heterogeneidade de reticulação do gel polimérico, aparecem picos menores de degradação nas curvas DTG, como em cerca de 319°C para a Pnipam VC1 (SOUSA, 2009). As etapas de degradação podem estar relacionadas à estrutura da reticulação das cadeias, que podem possuir cadeias mais ou menos reticuladas, com cadeias mais expandidas ou mais entrelaçadas, mais entrecruzadas. Cadeias mais expandidas são mais suscetíveis à degradação do que cadeias mais cruzadas, sendo que ambas podem estar presentes na estrutura do hidrogel (MOTTA, 2009). Com o aumento da temperatura, ocorre o processo de ruptura das cadeias poliméricas reticuladas, gerando fragmentos menores de cadeias poliméricas (COELHO, 2004). Entre 490 e 800°C, ocorre perda de 8,1% da massa inicial. A 800°C temos uma massa residual de 7,2%.

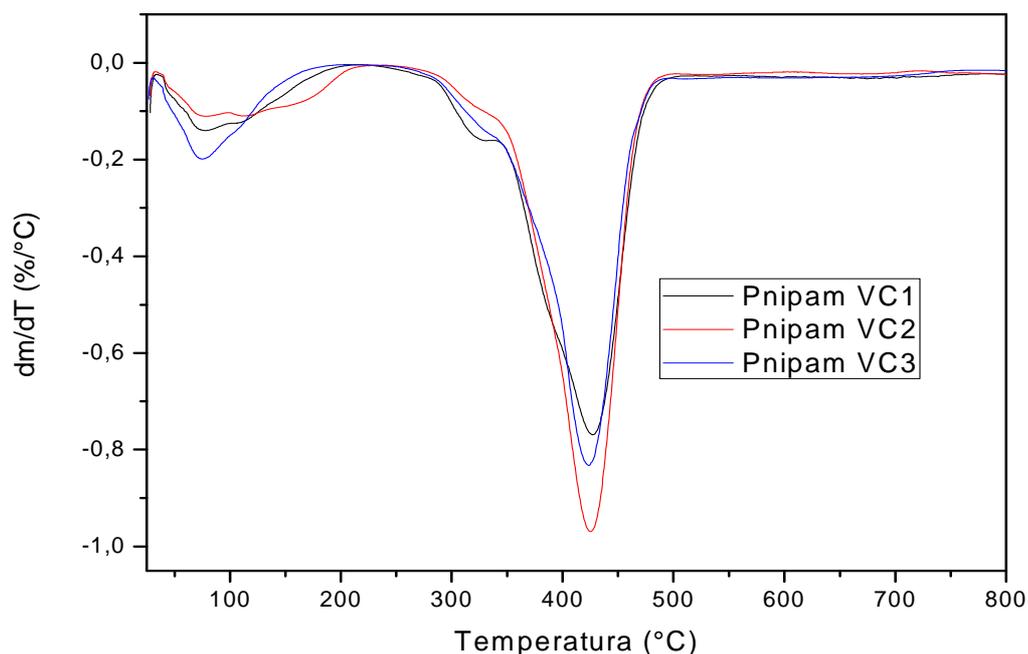


Figura 38: Curva DTG dos hidrogéis de Pnipam VC.

Da mesma forma, a Pnipam VC2 apresenta primeira etapa de perda de massa até 180°C, com perda de cerca de 13,1%, seguido de estabilidade até cerca de 285°C. A segunda etapa, entre 285 e 490°C está relacionada a maior perda de massa, de cerca de 71,1%, com pico de perda de massa evidenciado nas curvas DTG, Figura 38, em cerca de 428°C. Em seguida, entre as temperaturas de 490 e 800°C, temos uma perda de massa de 5,5%, ficando com massa residual de 7,7%.

A Pnipam VC3 possui perda de massa de 14,6%, atribuída a perda de água da estrutura, entre a temperatura ambiente e 165°C, estabilizando-se até 270°C. A principal perda de massa ocorre entre 270 e 490°C, sendo correspondente a 66,6% da massa inicial, com pico de perda de massa evidenciado nas curvas DTG da figura 38 em 428°C. Entre 490 e 800°C, ocorre ainda perda de 6,4% de massa. Ao final da análise, a 800°C tem-se 11,6% de massa residual.

Os hidrogéis Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3 apresentam o mesmo perfil de degradação térmica, não se observando diferenças com respeito a estabilidade térmica entre as redes com diferentes teores de agente reticulante. A Pnipam VC3 apresenta maior teor de água, o que sugere uma rede entrecruzante com caráter mais hidrofílico e maior capacidade de reter a água adsorvida. Isto é esperado pois foi mostrado por FTIR que a Pnipam VC3 tem menor teor de grupos hidrofóbicos (isopropil) se comparado com a Pnipam VC1 e a Pnipam VC2.

O hidrogel Pnipam VC3 apresenta um maior teor de massa residual que a Pnipam VC1 e a Pnipam VC2, o que sugere que estruturas cíclicas mais estáveis foram formadas durante a degradação térmica da rede entrecruzada.

A temperatura de degradação da cadeia principal obtidas por DTG, são apresentadas na Tabela 6. A literatura reporta temperaturas de degradação 400 e 410°C para hidrogéis de Pnipam reticulados com MBAAm (HEBEISH, FARAG, *et al.*, 2014) (SILVA, 2006), (ZOPPE, HABIBI, *et al.*, 2010).

Tabela 6: Temperatura de degradação dos hidrogéis sintetizados eletroquimicamente por Voltametria Cíclica

	<b>Td (°C)</b>
<b>Pnipam VC1</b>	432
<b>Pnipam VC2</b>	428
<b>Pnipam VC3</b>	428

Os resultados obtidos em nosso trabalho mostram que a eletrossíntese de hidrogéis de Pnipam permitiram a obtenção de redes entrecruzadas com elevada estabilidade térmica.

### 5.1.3.2 - CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A técnica termoanalítica DSC determina a diferença nas quantidades de calor necessárias para aumentar a temperatura de uma amostra e de uma referência. A partir dos dados é possível identificar transições térmicas no material, como temperatura de fusão, transições vítreas e de reações químicas ou decomposição (MOTTA, 2009).

A temperatura de transição vítrea é a temperatura em que a fase amorfa de um material polimérico muda do estado vítreo (temperatura baixa) ao estado borrachoso (temperatura mais alta), como consequência da mobilidade molecular de curto alcance (em torno de átomos de carbono). Abaixo da T<sub>g</sub> o material é rígido, sem mobilidade, e acima desta temperatura, o polímero adquire certa mobilidade, com o movimento de segmentos moleculares. Essa mobilidade está limitada pela reticulação ou emaranhamento das cadeias poliméricas, que conduzem à formação de ligações secundárias entre as macromoléculas (SILVA, 2006) (BRANT, 2008).

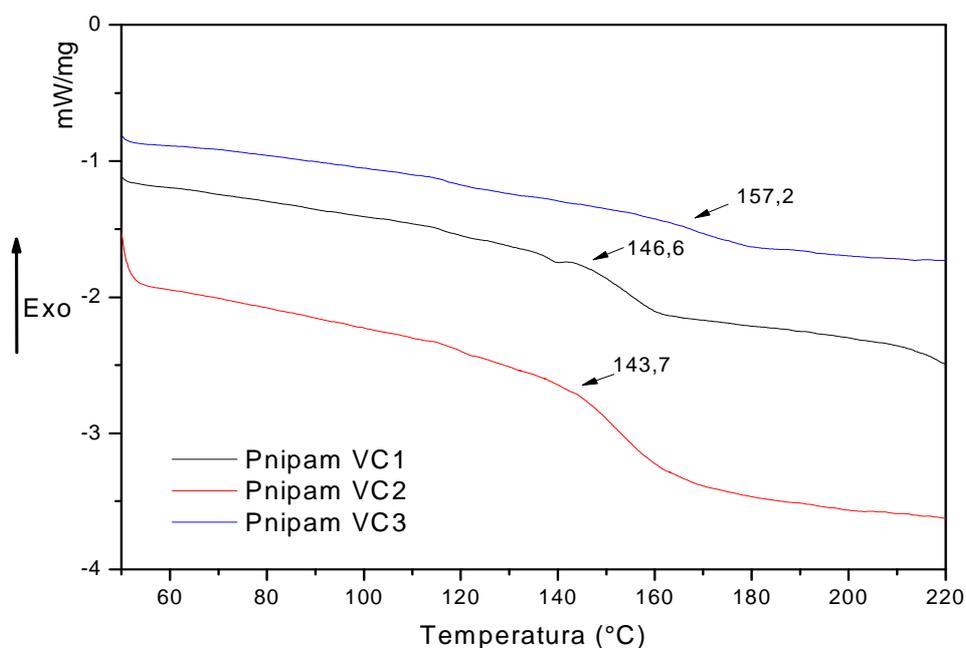


Figura 39: Curvas DSC dos hidrogéis de Pnipam sintetizados eletroquimicamente por Voltametria Cíclica.

A Figura 39 apresenta as curvas DSC referentes aos hidrogéis de Pnipam sintetizados eletroquimicamente por voltametria cíclica. A temperatura de transição vítrea é definida como aquela na qual, no resfriamento, cessa a mobilidade molecular em torno das ligações C-C. Abaixo da Tg a agitação térmica é insuficiente para permitir rotações livres dos segmentos moleculares, além de não permitir respostas reversíveis a qualquer deformação, correspondendo a uma transição de segunda ordem (SILVA, 2006) (QUEIROZ, 2010). Os valores de Tg reportados referem-se ao onset, temperatura em que se inicia o processo.

Observa-se pelas curvas DSC que a Pnipam VC1 apresenta Tg em cerca de 146,6 °C, enquanto que para a Pnipam VC2 a Tg aparece em 143,7 °C e para a Pnipam VC3 a transição vítrea é evidenciada em 157,2 °C, valores próximos ao reportados na literatura (ALLI e HAZER, 2008). Encontramos diferentes valores para a transição vítrea da Pnipam na literatura, que variam conforme a estrutura do hidrogel formado. Análises térmicas de hidrogéis de Pnipam foram realizadas por Wang e colaboradores através de técnica DSC, encontrando um valor de Tg igual a 107 °C (WANG, WU, *et al.*, 2015) (SU, SHUAI, *et al.*, 2013) (ZOPPE, HABIBI, *et al.*, 2010). Estudos de Coughlan e Corrigan encontraram que a transição vítrea de hidrogéis de Pnipam ocorre em 143,1 °C (COUGHLAN e CORRIGAN, 2006). Já Reddy e Tanaka encontraram que a Tg do Pnipam ocorre em 138 °C (REDDY e TAKAHARA, 2009).

A temperatura de transição vítrea se caracteriza pela temperatura na qual o polímero, que está no estado sólido, adquire energia para romper as ligações secundárias e passa a ter mobilidade para escoamento limitado das cadeias, o chamado estado de borracha. Fatores estruturais como polaridade, linearidade das cadeias, reticulação e efeitos estéricos influenciam muito nas forças de interações secundárias (QUEIROZ, 2010). O grau de reticulação de um polímero é controlado pela fração de agente reticulante presente na polimerização e da conversão das duplas ligações. Um aumento no grau de reticulação reduz a mobilidade das cadeias e, conseqüentemente, aumenta a Tg. Não há diferenças significativas entre a Tg do hidrogel Pnipam VC1 e Pnipam VC2. Embora a quantidade de agente reticulante aumente, Pnipam VC1 < Pnipam VC2, a análise por FTIR mostrou que para as amostras Pnipam VC1 e Pnipam VC2 não há uma diferença significativa no grau de reticulação, o que pode também ser evidenciado no valor da Tg. Já a Pnipam VC3 apresenta maior reticulação e assim, menor mobilidade das cadeias e conseqüentemente maior Tg.

#### **5.1.4 - DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO LCST**

A determinação da temperatura de transição de fases LCST foi realizada por técnicas de intumescimento em função da temperatura, medidas de transmitância por espectroscopia de absorção UV-Vis e por medidas eletroquímicas por voltametria cíclica. Observa-se que a determinação por VC parece ser mais confiável, com menor erro envolvido durante a análise. A temperatura de transição LCST demonstra não sofrer variação considerável com o aumento da quantidade de agente reticulante.

##### **5.1.4.1 - ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA**

Para determinação aproximada da temperatura de transição de fases LCST, realizamos o estudo do grau de intumescimento no equilíbrio em função da temperatura. A relação entre o intumescimento e a temperatura para os hidrogéis é apresentada na Figura 40.

Em condições de equilíbrio, as amostras mostram alto valor de intumescimento a temperaturas abaixo da LCST. Conforme o aumento na temperatura, a interação da água com os grupos hidrofílicos das cadeias do hidrogel, através das ligações de hidrogênio, diminui, levando a maiores interações hidrofóbicas, diminuindo assim o valor percentual do intumescimento.

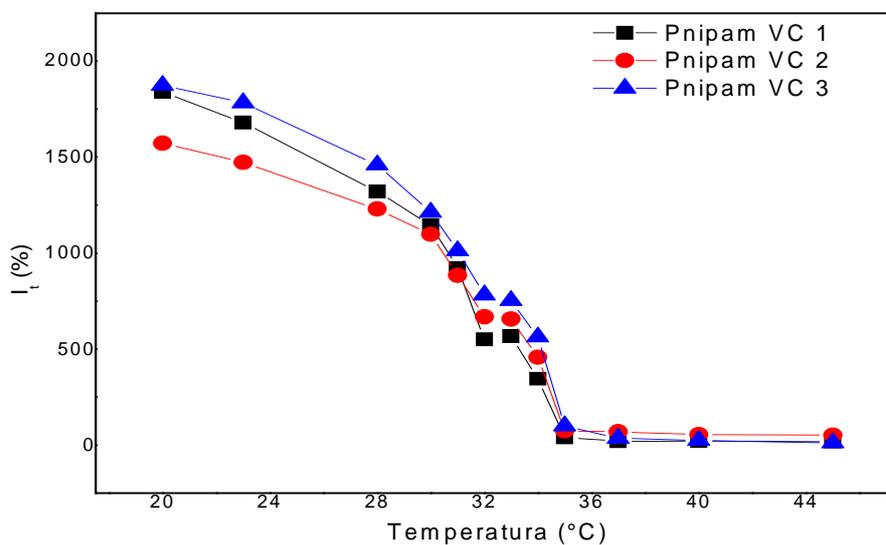


Figura 40: Grau de intumescimento dos hidrogéis de Pnipam VC em função da temperatura.

O ponto na qual os hidrogéis sofrem uma redução substancial no volume, com diminuição drástica do grau de intumescimento, é considerado a temperatura de transição de fases, isto é, a temperatura LCST (ZHANG, HUANG e ZHUO, 2004) (CHEARUIL e CORRIGAN, 2009). Os valores obtidos para a transição de fases dos hidrogéis de Pnipam são apresentados na Tabela 7. Observa-se que a temperatura de transição de fases dos hidrogéis, determinada por intumescimento em função da temperatura, é independente da quantidade de agente reticulante (DEROSA, DEROSA, *et al.*, 2007).

Tabela 7: Valores da temperatura de transição LCST obtidos por intumescimento em função da temperatura

	Temperatura LCST(°C)
<b>Pnipam VC1</b>	31,0
<b>Pnipam VC2</b>	30,9
<b>Pnipam VC3</b>	30,9

### 5.1.4.2 - MEDIDAS DE TRANSMITÂNCIA

O aumento da turbidez da solução é resultado da dispersão da luz por parte dos agregados formados acima da temperatura crítica. Através da análise espectroscópica de transmitância em diferentes temperaturas, dentro da região de comprimentos de onda do visível, podemos facilmente observar uma diminuição na luz que atravessa a amostra, acima da LCST da Pnipam (COSTA, 2012).

Estudo da variação da transmitância em função da temperatura foi realizado para determinação da temperatura de transição de fases LCST dos hidrogéis sintetizados eletroquimicamente por voltametria cíclica. A Figura 41 mostra as curvas de transmitância em função da temperatura dos hidrogéis em solução aquosa.

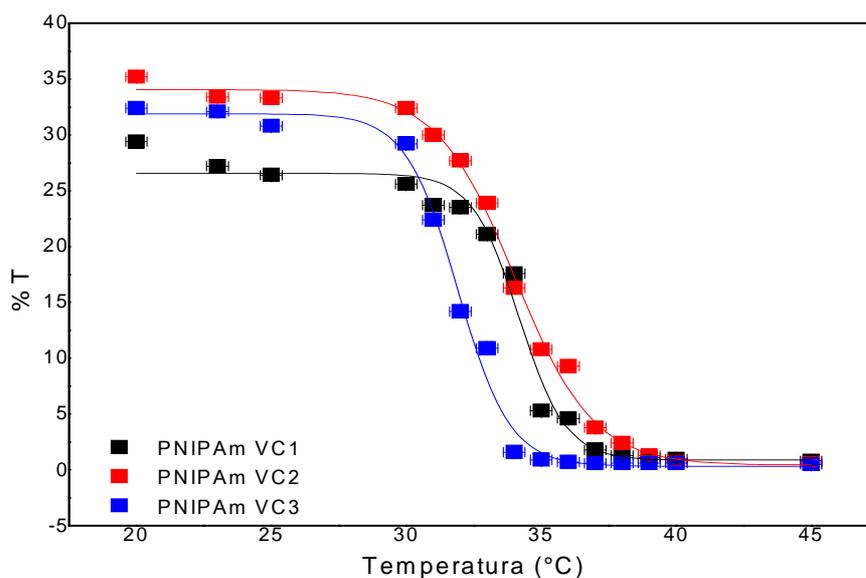


Figura 41: Gráfico da transmitância em função da temperatura para os hidrogéis de Pnipam VC.

A LCST é determinada com base na diminuição da transparência do hidrogel com o aumento da temperatura, transformando-se de transparente à opaco, turvo. Essa opalescência é causada pela transição de hidrofílica para hidrofóbica, expondo mais os grupos isopropil. Isto causa

menor hidrofiliçidade, diminuindo a interação do hidrogel com a água (MOURA, 2005). O polímero começa a colapsar diminuindo a transparência da solução.

Tabela 8: Valores da temperatura de transição LCST obtidos por medidas de transmitância.

	<b>Temperatura LCST(°C)</b>
<b>Pnipam VC1</b>	32,4
<b>Pnipam VC2</b>	31,4
<b>Pnipam VC3</b>	30,1

A transição de fases é evidenciada pela redução mais acentuada na transmitância devido a maior turbidez do meio (MARQUES, 2012) (LAI, WANG, *et al.*, 2016). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 8 e mostram que também por esta técnica não ocorre variação significativa e que a transição LCST segue independente do grau de reticulação (JIN, LIU, *et al.*, 2008).

#### **5.1.4.3 - MEDIDAS POR VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC)**

Outra forma utilizada para determinar a temperatura de transição de fases LCST dos hidrogéis foi realizar estudos de voltametria cíclica do hidrogel em solução de ferricianeto de potássio,  $K_3[Fe(CN)_6]$  em solução de KCl. O uso do ferricianeto como solução de intumescimento deve-se ao fato de que ele é considerado um sistema reversível apresentando nos dois sentidos, direto e inverso, os picos catódicos e anódicos (CARAMIT, SOLALIENDRES, *et al.*, 2006), (ISAQUE, 2010). O par  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  é um sistema dito comportado eletroquimicamente, sendo considerado modelo para experimentos de VC.

Ao intumescer os hidrogéis de Pnipam em solução de ferricianeto, utilizamos as propriedades de ambos para determinar a temperatura de transição de fases LCST. Através da solução de ferricianeto pode ser determinada a corrente de pico em cada temperatura. Com o aumento da temperatura da solução, a Pnipam vai contraindo-se e expulsando a solução de ferricianeto, sendo então o sinal de corrente suprimido.

Os voltamogramas de resposta dos hidrogéis de Pnipam em solução de ferrocianeto de potássio,  $K_3[Fe(CN)_6]$  são mostrados na Figura 42a.

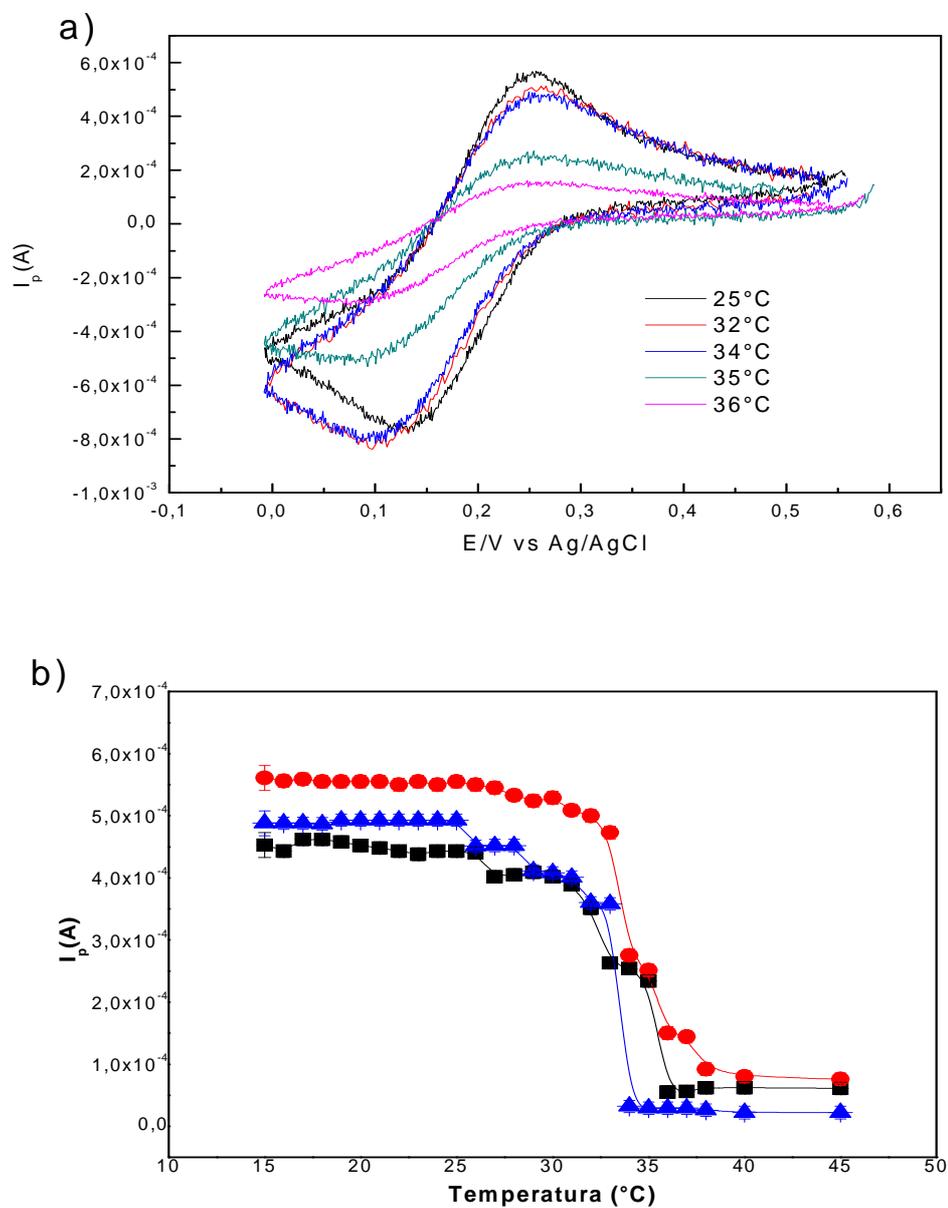


Figura 42: a) Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodos de Platina, em solução de  $K_3[Fe(CN)_6]$  em KCL 0,1 mol  $L^{-1}$ , de 0 a 0,6V, com velocidade de varredura de  $0,1 V s^{-1}$ . b) Curva Corrente de pico em função da temperatura.

Quando a temperatura está abaixo da LCST, o ferricianeto de potássio apresenta os picos anódico e anódico bem definidos em cerca de 0,26 V e em 0,13 V, respectivamente, referentes ao par redox  $[Fe(CN)_6]^{3-}/ [Fe(CN)_6]^{4-}$ . Contudo, quando a temperatura é maior que  $32^\circ C$ , o sinal de

VC é gradativamente suprimido. À medida que a temperatura aumenta apenas alguns íons de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  conseguem difundir através do hidrogel e serem detectados pelo eletrodo (ZHOU, LIU, *et al.*, 2007). A temperatura de transição de fases LCST pode ser detectada na curva de corrente de pico de oxidação em função da temperatura, Figura 42b, no ponto de inflexão da curva. Os resultados são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Valores da temperatura LCST obtidos por Voltametria Cíclica.

	<b>Temperatura LCST(°C)</b>
<b>Pnipam VC1</b>	32,5
<b>Pnipam VC2</b>	32,2
<b>Pnipam VC3</b>	32,5

Os resultados obtidos confirmam que não existem diferenças no valor da temperatura de transição de fases LCST com respeito ao grau de reticulação das amostras analisadas, obtendo-se por esta técnica, valor médio de LCST de 32,4 °C.

Como não foi determinada a exatidão de cada técnica, não podemos definir qual é a mais exata. Portanto, concluímos que os hidrogéis polimerizados eletroquimicamente por VC apresentaram um valor de LCST independente do grau de reticulação, valores entre 30 e 32,5 °C, valores correspondentes ao encontrados na literatura.

### **5.1.5 - ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO**

A Pnipam intumescce porque os grupos amida formam ligações de hidrogênio com a água, a temperatura menor que a LCST. Com o aumento da temperatura, essas interações quebram e as interações hidrofóbicas pelo grupo isopropil tornam-se predominantes, colapsando o hidrogel. Um aspecto importante a ser considerado no desenvolvimento de biomateriais é o intumescimento sofrido pelo hidrogel quando em contato com determinada solução.

O intumescimento dos hidrogéis de Pnipam VC foi avaliado gravimetricamente. Os meios escolhidos para os testes foram: água, solução NaCl 0,9% (força iônica = 0,15mol/L) e solução tampão PBS (força iônica = 1,71 mol/L), nas temperaturas de 23 e 37°C. Foram escolhidas essas temperaturas porque pretende-se que a formulação final possa ser injetável. Por isso, estudos do comportamento de expansão e absorção de água do hidrogel abaixo e acima da temperatura são necessários. As soluções de NaCl 0,9% e PBS escolhidas possuem íons que favorecem o efeito “*salting out*”, de acordo com a série de Hofmeister.

### 5.1.5.1 – ESTUDO DE INTUMESCIMENTO A 23°C

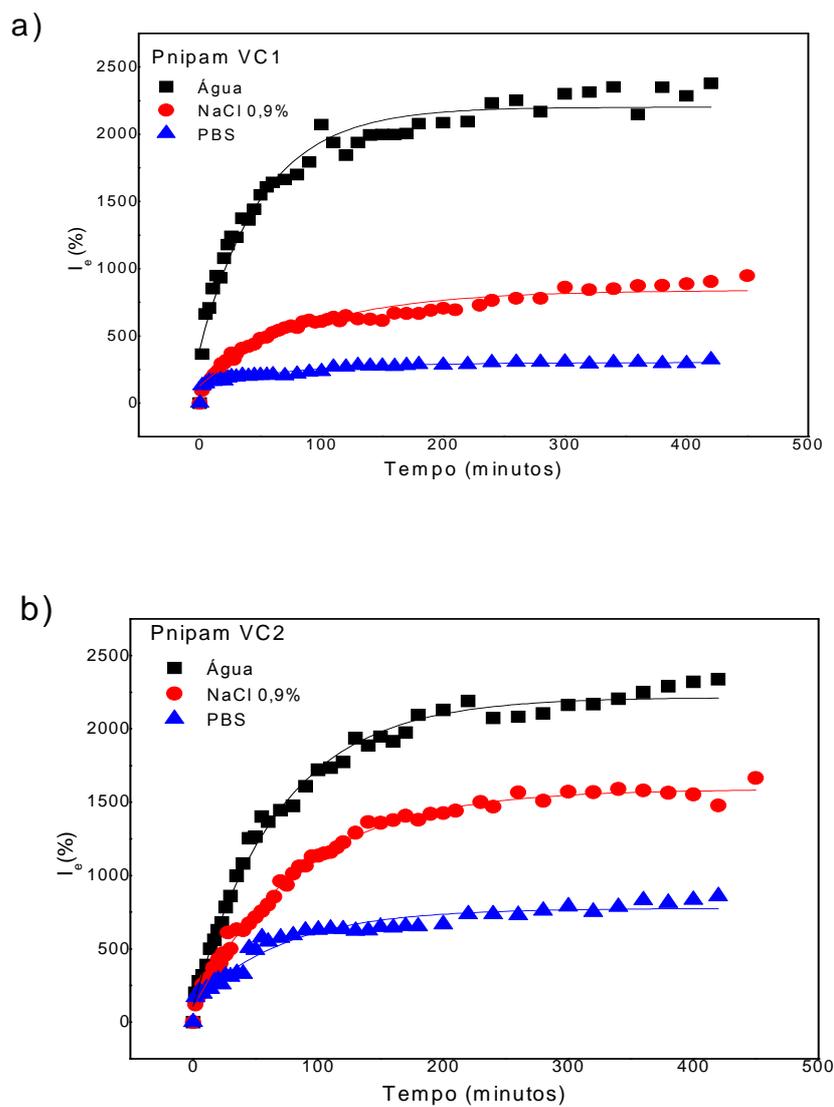
Quando os hidrogéis secos são colocados em contato com o solvente, este inicia a penetração dentro da rede polimérica a certa razão, até atingir o equilíbrio. O equilíbrio é atingido quando as forças geradas pelas moléculas do solvente para entrar no polímero e as forças elásticas geradas pelas cadeias poliméricas são equilibradas. O equilíbrio de um sistema polímero-solvente é caracterizado pela variação da energia livre,  $\Delta G$ , igual a zero. Essa variação é o somatório da variação de energia livre de mistura,  $\Delta G_m$ , com a variação da energia livre elástica,  $\Delta G_e$ .

$$\Delta G = \Delta G_m + \Delta G_e = 0 \quad (25)$$

A energia livre de mistura refere-se à expansão do gel devido às interações favoráveis polímero-solvente como ligações de hidrogênio ou interações iônicas. A energia livre elástica está associada à limitação da expansão devido a estrutura reticulada e à contração do gel devido ao desfavorecimento da interação polímero solvente causado por mudanças no pH, temperatura e outros (MARQUES, 2012), (COLI, 2013).

A estrutura dos géis poliméricos pode ser comparada a uma rede elástica, que quando submetida a uma tensão, se expande até atingir o seu limite. Cessando a tensão, ele retorna à sua forma original. O aumento da concentração de reticulante resulta em géis significativamente mais rígidos e, conseqüentemente, com menor capacidade de expansão, contribuindo para o termo elástico. O termo elástico pode ser interpretado como a resistência ao alongamento da cadeia, tendendo a diminuir a quantidade de solvente absorvida pelo hidrogel (QUEIROZ, 2010).

A Figura 43 apresenta o grau de intumescimento no equilíbrio em função do tempo para os hidrogéis de Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3 nos diferentes meios utilizados.



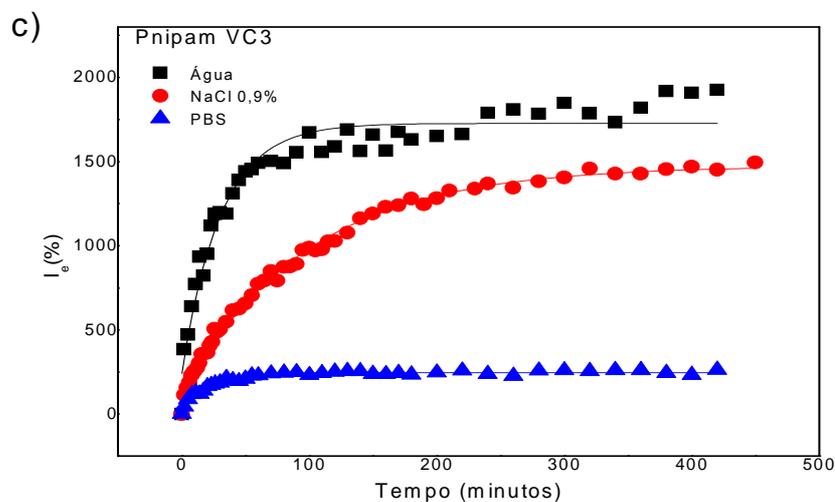


Figura 43: Intumescimento em função do tempo para os hidrogéis a) Pnipam VC1; b) Pnipam VC2 e c) Pnipam VC3, a 23 °C.

Observa-se que, independentemente da solução utilizada, ocorre um rápido intumescimento inicial e, em seguida, o intumescimento ocorre de forma mais lenta até que o equilíbrio é atingido.

Verifica-se que o grau de intumescimento varia conforme o meio. As amostras em água intumescem mais que em solução NaCl 0,9% e, por sua vez, que em solução PBS. Bortolin e colaboradores também verificaram que os valores do grau de intumescimento reduzem consideravelmente quando o meio de intumescimento foi variado de água para soluções contendo íons (BORTOLIN, AOUADA, *et al.*, 2012). Observa-se que o aumento da força iônica do meio faz diminuir o grau de intumescimento, o que pode ser explicado simultaneamente pelo efeito Hofmeister e pelo gradiente de concentração (PEPPAS e PEPPAS, 1991).

Observamos que o equilíbrio de intumescimento para os hidrogéis em água destilada foi de 2377, 2338 e 1926% para os hidrogéis de Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, respectivamente. Esses valores foram muito maiores que os encontrados para hidrogéis polimerizados por irradiação gama, de 1260 % (TASDELEN, KAYAMAN-APOHAN, *et al.*, 2005). Cuggino estudou hidrogéis de Pnipam feitos por polimerização radicalar livre a 80°C, encontrando valores de intumescimento de cerca de 600 % (CUGGINO, STRUMIA e IGARZABAL, 2010).

Poschlad e Enders prepararam hidrogéis de Pnipam de forma semelhante à Cuggino, com fração mássica de polímero  $\xi=0,08$  e fração molar de reticulante  $y_c=0,01$ . A razão de intumescimento ( $M_t/M_0$ ) encontrada foi de  $25,54\pm 1,3$ . Considerando os mesmos cálculos neste trabalho foram encontrados valores de 24,77, 24,38 e 20,26 para os hidrogéis Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, respectivamente. Neste trabalho foram utilizados maiores valores da fração molar de reticulante, pressupondo a formação de estruturas mais compactas, diminuindo assim a razão de intumescimento (POSCHLAD e ENDERS, 2011).

Considerando o intumescimento dos hidrogéis em água, verifica-se que o grau de intumescimento no equilíbrio diminui conforme aumenta a quantidade de agente reticulante. Associa-se a este resultado o fato das cadeias mais reticuladas possuírem redes mais compactas. Em meio aquoso, portanto, o intumescimento depende apenas da força elástica do hidrogel. O hidrogel que mais intumesce possui menor força elástica, podendo ser mais deformado e, conseqüentemente, tendo maior capacidade de reter água em sua estrutura (CAMPESE, GUILHERME, *et al.*, 2006).

Podemos considerar que a natureza química dos hidrogéis muda pouco e apenas a reticulação é afetada de maneira considerável, fazendo diminuir a concentração de grupos isopropil na cadeia. Ainda que a razão de reticulante aumente de Pnipam VC1 para Pnipam VC2, os resultados em água mostram que o grau de intumescimento no equilíbrio é muito semelhante, o que sugere força elástica dos hidrogéis muito semelhante ou ligeiramente diferente.

Para os hidrogéis em Solução NaCl 0,9%, podemos verificar que o intumescimento atinge valores de 935, 1650 e 1490 % para os hidrogéis de Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, respectivamente. Verifica-se que a solução interfere nos valores de intumescimento, sendo este menor que os obtidos em água destilada. A presença do sal no meio de intumescimento contribui para a formação de um gradiente de concentração, que dificulta a entrada de água no interior do hidrogel e diminui os valores de  $I_e$  (MALMONGE e ZAVAGLIA, 1997). De acordo com a série de Hofmeister, o íon Cl está em uma posição de ânion com efeito moderado sobre o intumescimento, o que explica o fato de os hidrogéis ainda possuírem valores significativos do grau de intumescimento no equilíbrio.

Para os hidrogéis colocados em solução PBS, os valores de intumescimento no equilíbrio foram de 320, 856 e 260% para os hidrogéis de Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, respectivamente. Esses valores são muito inferiores aos encontrados para os hidrogéis

intumescidos em água e em solução NaCl 0,9%. Essa redução também foi encontrada por Cuggino em hidrogéis de Pnipam, ocorrendo redução do grau de intumescimento de 608% em água destilada para 357% em PBS, pH 7,4.

A presença de íons tem grande efeito no comportamento de intumescimento de hidrogéis. O balanço entre a pressão osmótica do sistema e a resposta elástica do gel é um dos fatores que controlam a capacidade de absorção de água. A pressão osmótica resulta da diferença entre as concentrações de íons no interior do gel e na solução externa. O aumento da força iônica aumenta o gradiente de concentração de íons móveis entre o polímero e a solução externa e, de imediato, o volume de gel diminui, resultando no colapso do gel (BUENO, 2010), (BRITO, RODRIGUES, *et al.*, 2013).

Em relação à série de Hofmeister, a solução PBS possui íons  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  e  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  que favorecem o efeito *salting out*, diminuindo o grau de intumescimento (DE LIMA, 2014).

Com o aumento da força iônica do meio observa-se que a amostra Pnipam VC2 possui maior valor do grau de intumescimento, o que sugere que o efeito do gradiente de concentração é menos acentuado, devido ao impedimento estérico da rede que dificulta a difusão dos íons. Desta maneira a difusão da água é favorecida na rede Pnipam VC2, e simultaneamente o efeito Hofmeister é menos acentuado. Logo, embora existam ambos os efeitos, são de menor intensidade, manifestando a rede Pnipam VC2 um maior intumescimento que Pnipam VC1 para igual valor de força iônica do médio. Este comportamento se repete na amostra VC3, com maior agente reticulante.

Por apresentarem grande conteúdo de água em sua estrutura e mimetizarem a textura dos tecidos naturais os hidrogéis apresentam, na maioria dos casos, biocompatibilidade, tendo grande potencial para aplicações biomédicas (CRISPIM, 2006). Podemos calcular o teor de água total no equilíbrio, EWC, através da Equação 2. Os valores obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC a 23°C e nos diferentes meios de intumescimento são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Teor de água total presente nos hidrogéis de Pnipam VC em diferentes meios de intumescimento, a 23 °C.

	Teor de água total % (EWC)		
	Água	Solução NaCl 0,9%	PBS
<b>Pnipam VC1</b>	0,960	0,927	0,763
<b>Pnipam VC2</b>	0,959	0,944	0,895
<b>Pnipam VC3</b>	0,951	0,937	0,724

Os valores de EWC encontrados são maiores que aqueles encontrados na maioria dos tecidos humanos, de cerca de 0,6, o que sugere que estes hidrogéis podem ser usados em aplicações biomédicas (TASDELEN, KAYAMAN-APOHAN, *et al.*, 2005), (CUGGINO, STRUMIA e IGARZABAL, 2010) (DRAGAN, 2014). Observa-se que o CSE diminui conforme o aumento da força iônica do meio, conforme já explicado anteriormente.

### 5.1.5.1.1 - LEI DE FICK

Os parâmetros associados à cinética de intumescimento são importantes para entender o processo de difusão da solução para o interior do hidrogel. Aplicando-se a Lei de Fick, Equação 6 para os estágios iniciais de intumescimento (60%), obtemos os valores do coeficiente de difusão  $n$ , da constante de equilíbrio  $k$  e do coeficiente de correlação  $R^2$  para cada sistema estudado, valores estes apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Valores de  $n$ ,  $k$  e  $R^2$  obtidos pela regressão linear do Modelo de Fick para os hidrogéis Pnipam VC a 23°C.

		$n$	$k (10^2) (\text{min}^{-1})$	$R^2$
<b>Pnipam VC1</b>	Água	$0,47 \pm 0,14$	$10,65 \pm 0,22$	0,9928
	Solução NaCl 0,9%	$0,36 \pm 0,02$	$12,94 \pm 0,69$	0,9772
	PBS	$0,09 \pm 0,01$	$46,88 \pm 1,09$	0,9645
<b>Pnipam VC2</b>	Água	$0,73 \pm 0,01$	$3,11 \pm 0,14$	0,9994
	Solução NaCl 0,9%	$0,63 \pm 0,01$	$4,03 \pm 0,13$	0,9970
	PBS	$0,37 \pm 0,01$	$13,69 \pm 0,13$	0,9806
<b>Pnipam VC3</b>	Água	$0,65 \pm 0,01$	$7,33 \pm 0,17$	0,9998
	Solução NaCl 0,9%	$0,54 \pm 0,01$	$5,64 \pm 0,15$	0,9914
	PBS	$0,41 \pm 0,01$	$19,98 \pm 1,19$	0,9984

Observamos que o valor da constante  $n$ , que define o mecanismo da difusão nos hidrogéis, diminui conforme aumento da força iônica do meio de intumescimento. Quando a matriz polimérica intumesce em água temos que os valores da constante difusional  $n$  são correlacionados a difusão anômalo ou não Fickiana. Quando em solução NaCl 0,9% observa-se que as amostras Pnipam VC2 e Pnipam VC3 possuem o mesmo comportamento de difusão anômalo, enquanto a Pnipam VC1 possui valor de  $n$  menor que 0,45 indicando difusão menos Fickiana. Valores da

constante  $n$  menores que 0,45 também são observados para todas as amostras de Pnipam VC quando colocados em intumescimento em solução de PBS.

A constante  $k$  mostra que o processo de intumescimento nos hidrogéis é mais rápido nas soluções com maior força iônica (BORTOLIN, AOUADA, *et al.*, 2012). As constantes  $k$  achadas para os hidrogéis feitos neste trabalho por VC são maiores que os encontrados para os hidrogéis de Pnipam feitos por irradiação gama, de 3,2, indicando difusão mais rápida para os hidrogéis eletroquimicamente sintetizados (TASDELEN, KAYAMAN-APOHAN, *et al.*, 2005).

### 5.1.5.1.2 - CINÉTICAS DE 1ª E 2ª ORDEM

Os dados obtidos no estudo de intumescimento foram avaliados utilizando-se de modelos de primeira e segunda ordem, de acordo com as Equações 8 e 10, respectivamente.

Se assumirmos que o processo de intumescimento é uma cinética de pseudo-primeira ordem, devemos então obter a constante do processo de intumescimento  $k_s$  a partir da Equação 8, em 23°C. A Tabela 12 fornece os valores de  $k_s$  para cada hidrogel e do coeficiente de regressão linear  $R^2$  para os hidrogéis de Pnipam VC nos respectivos meios de intumescimento.

Tabela 12: Parâmetros da cinética de 1ª ordem obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC, a 23°C.

		$K_s (10^2) (\text{min}^{-1})$	$R^2$
Pnipam <sup>a</sup>		0,2	0,98
<b>Pnipam VC1</b>	Água	$2,14 \pm 0,03$	0,9856
	Solução NaCl 0,9%	$1,26 \pm 0,01$	0,9954
	PBS	$1,53 \pm 0,01$	0,9956
<b>Pnipam VC2</b>	Água	$1,72 \pm 0,03$	0,9736
	Solução NaCl 0,9%	$1,32 \pm 0,01$	0,9957
	PBS	$1,54 \pm 0,01$	0,9959
<b>Pnipam VC3</b>	Água	$3,23 \pm 0,01$	0,9996
	Solução NaCl 0,9%	$1,16 \pm 0,01$	0,9939
	PBS	$4,43 \pm 0,02$	0,9977

<sup>a</sup> – Valor obtido segundo Varghese (VARGHESE, ISMAIL, *et al.*, 2008)

Verifica-se que os valores das constantes de intumescimento  $k_s$  para os hidrogéis obtidos eletroquimicamente por voltametria cíclica são maiores que os encontrados por Varghese,

indicando uma razão de intumescimento em água mais rápida (GOTOH, NAKATANI e SAKOHARA, 1998), (VARGHESE, ISMAIL, *et al.*, 2008).

Assumindo que o intumescimento seja de pseudo-segundo grau, utilizamos a Equação 10 para determinarmos os valores das constantes K e do coeficiente de regressão linear  $R^2$ , valores que são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Parâmetros da cinética de 2ª ordem obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC, a 23°C.

		$1/K_{\infty} (10^2)$	$K (10^5)$	$1/I_e (10^4)$	$R^2$
<b>Pnipam VC1</b>	Água	$1,03 \pm 0,04$	1,81	$4,23 \pm 0,02$	0,9985
	NaCl 0,9%	$5,86 \pm 0,12$	2,43	$10,5 \pm 0,05$	0,9980
	PBS	$7,52 \pm 0,21$	7,45	$31,2 \pm 0,08$	0,9993
<b>Pnipam VC2</b>	Água	$2,21 \pm 0,07$	0,92	$3,87 \pm 0,03$	0,9934
	NaCl 0,9%	$3,92 \pm 0,10$	1,02	$5,26 \pm 0,04$	0,9947
	PBS	$4,91 \pm 0,12$	3,43	$11,5 \pm 0,05$	0,9981
<b>Pnipam VC3</b>	Água	$0,66 \pm 0,05$	4,13	$5,57 \pm 0,02$	0,9987
	NaCl 0,9%	$4,61 \pm 0,08$	1,01	$5,67 \pm 0,03$	0,9971
	PBS	$3,12 \pm 0,37$	48,15	$39,4 \pm 0,15$	0,9986

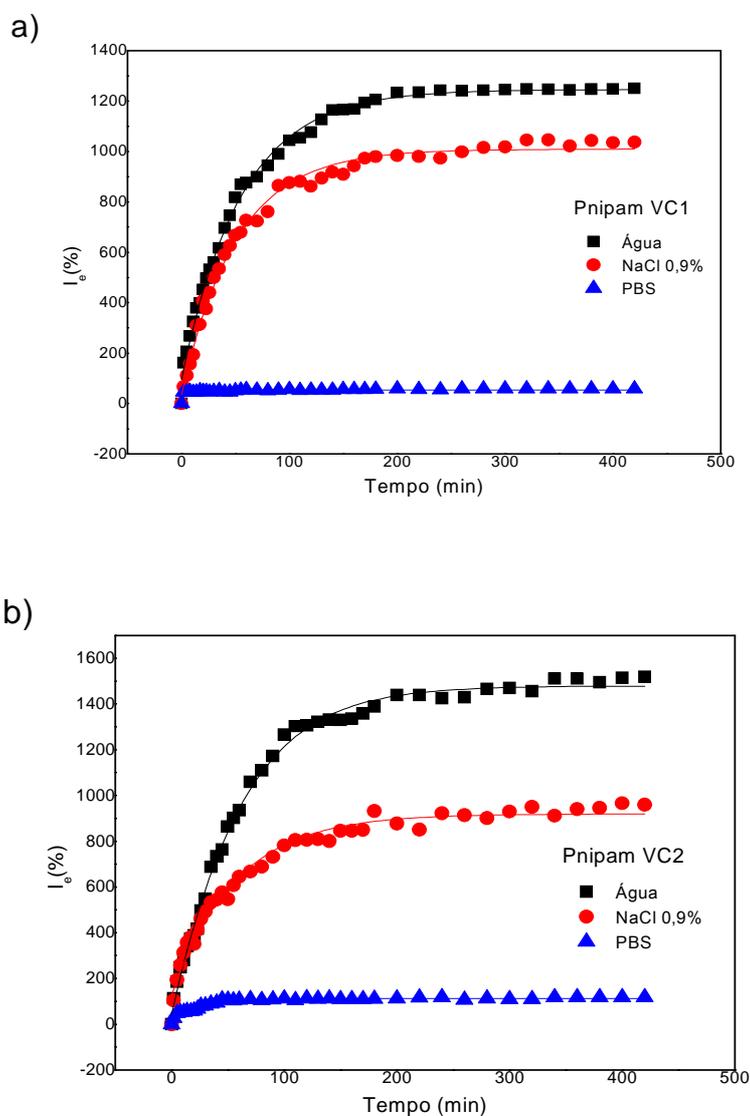
De posse dos valores da constante de velocidade aparente de intumescimento no equilíbrio  $K_{\infty}$ , podemos também encontrar o valor da constante de velocidade de intumescimento, K, apresentado na Tabela 13. Observa-se que a razão  $1/K_{\infty}$  aumenta conforme aumento da força iônica das soluções, de forma que a constante de intumescimento de segunda ordem K também aumenta, demonstrando que o intumescimento é mais lento em água que em Solução NaCl 0,9% e, por sua vez, que em PBS (CUGGINO, STRUMIA e IGARZABAL, 2010).

Ao comparar os valores de regressão linear das cinéticas de pseudo primeira e segunda ordem, podemos concluir que os valores obtidos do intumescimento no tempo ajustam-se mais adequadamente ao modelo de Ho ou cinética de pseudo-segunda ordem. De acordo com Schott, em um sistema que tem o intumescimento segundo cinética de segunda ordem, o processo é controlado pela relaxação que ocorre no sistema durante o processo de absorção de solvente. Neste caso, a velocidade de intumescimento diminui de maneira proporcional à capacidade de intumescimento (SCHOTT, 1991) (CREMONEZ, BENTLEY e LARA, 2013).

### 5.1.5.2 - ESTUDO DE INTUMESCIMENTO A 37°C

O comportamento de um sistema não depende apenas de sua composição e estrutura, mas das condições do meio em que será utilizado. O intumescimento de hidrogéis de Pnipam foi estudado a uma temperatura de 37°C, temperatura corporal (COSTA, 2012).

A Figura 44 apresenta o grau de intumescimento em função do tempo para os hidrogéis nos diferentes meios utilizados, a 37°C.



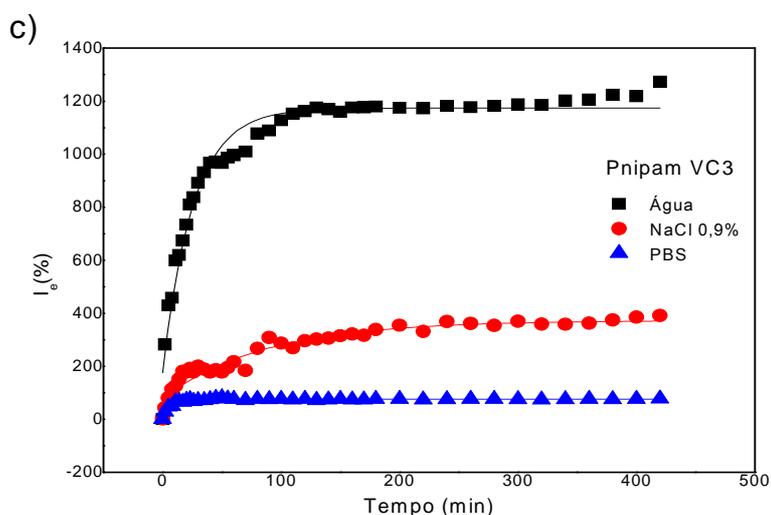


Figura 44: Intumescimento em função do tempo par aos hidrogéis a) Pnipam VC1 b) Pnipam VC2 e c) Pnipam VC3, a 37°C.

Observa-se um rápido intumescimento inicial, ocorrendo posteriormente de forma mais lenta até atingir o equilíbrio. Da mesma forma que em 23°C, o intumescimento dos hidrogéis está relacionado à força iônica do meio, sendo que as amostras em água intumescem mais que em solução NaCl 0,9% e, por sua vez, que em solução PBS. Acima da LCST (37°C), devido à natureza hidrofóbica da Pnipam, o equilíbrio de intumescimento é significativamente menor que a 23°C.

Observamos que o equilíbrio de intumescimento para os hidrogéis em água destilada foi de 1243, 1481 e 1215% para os hidrogéis de Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, respectivamente. Esses valores foram muito menores que os encontrados para os mesmos hidrogéis em água a 23°C.

Para os hidrogéis em solução NaCl 0,9%, podemos verificar que o intumescimento atinge valores de 1005, 928 e 372 % para os hidrogéis de Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, respectivamente. Verifica-se que a solução interfere nos valores de intumescimento, sendo este menor que os obtidos em água destilada.

Para os hidrogéis colocados em solução PBS, os valores de intumescimento no equilíbrio foram de 55, 114 e 76% para os hidrogéis de Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, respectivamente.

Essa redução no grau de intumescimento faz sentido, tendo em vista que as interações íon-dipolo são mais fortes do que as interações de hidrogênio no interior do hidrogel

O teor de água total no equilíbrio, EWC, foi determinado a partir da Equação 2. Os valores obtidos para os hidrogéis de Pnipam a 37 °C são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14: Teor de água total presente nos hidrogéis de Pnipam VC em diferentes meios de intumescimento, a 37 °C.

	<b>Teor de água total % (EWC)</b>		
	<b>Água</b>	<b>Solução NaCl 0,9%</b>	<b>PBS</b>
<b>Pnipam VC1</b>	0,929	0,912	0,371
<b>Pnipam VC2</b>	0,938	0,905	0,540
<b>Pnipam VC3</b>	0,927	0,796	0,436

A absorção de solvente pelos hidrogéis varia conforme a solução de intumescimento. Quando comparamos os valores de EWC, a 23 e a 37 °C, verifica-se claramente um menor valor do solvente em temperaturas acima da LCST, como esperado. Acima da LCST, as interações entre os grupos amida e a água enfraquecem e as interações hidrofóbicas pelos grupos isopropil tornam-se predominantes, favorecendo o colapso dos hidrogéis (CUGGINO, STRUMIA e IGARZABAL, 2010).

#### **5.1.5.2.1 - LEI DE FICK**

A partir dos valores do grau de intumescimento no equilíbrio obtidas para os hidrogéis em diferentes soluções e da Equação de Fick (Equação 6) é possível obter os valores de k e n, apresentados na Tabela 15.

A lei de Fick não se aplica aos hidrogéis em solução de PBS, visto que o equilíbrio é atingido nos primeiros 5 minutos. Observa-se que a quantidade de pontos no gráfico é muito inferior aos obtidos em 23°C, visto que a natureza da Pnipam interfere no grau de intumescimento e os percentuais de 60% estabelecidos pela lei de Fick são mais rapidamente alcançados.

De forma análoga aos resultados obtidos para o intumescimento a 23°C, observamos que o valor da constante n diminui quando o meio muda da água para a Solução de NaCl 0,9%.

Tabela 15: Valores de n, k e R<sup>2</sup> obtidos pela regressão linear do Modelo de Fick para os hidrogéis de Pnipam VC, a 37°C.

		<b>n</b>	<b>K (10<sup>2</sup>) (min<sup>-1</sup>)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Pnipam VC1</b>	Água	0,84 ± 0,02	2,40 ± 0,13	0,9953
	Solução NaCl 0,9%	0,69 ± 0,01	4,49 ± 0,06	0,9996
<b>Pnipam VC2</b>	Água	0,91 ± 0,02	1,54 ± 0,11	0,9920
	Solução NaCl 0,9%	0,45 ± 0,02	11,08 ± 0,48	0,9905
<b>Pnipam VC3</b>	Água	1,13 ± 0,08	1,73 ± 0,14	0,9775
	Solução NaCl 0,9%	0,21 ± 0,01	26,71 ± 1,16	0,9586

A Pnipam VC1 possui valores da constante n entre 0,5 e 1, indicando difusão anômala ou Não Fickiana, quando o tempo de difusão e de relaxação são comparáveis. Para o hidrogel Pnipam VC2 verifica-se que, quando intumescido em água, o hidrogel segue difusão Não Fickiana, enquanto que em solução NaCl 0,9% torna-se Fickiano. Para o hidrogel Pnipam VC3 em água a difusão é classificada como Não Fickiana, enquanto que o valor de n para o hidrogel em solução NaCl 0,9% é muito menor que 0,5, demonstrando que no processo de intumescimento a relaxação das cadeias na rede polimérica é menos significativa que o processo difusional, o que é considerado como difusão menos Fickiano.

Verifica-se, através da constante k, que o processo de intumescimento apresentado pelos hidrogéis em solução fisiológica NaCl 0,9% é muito mais rápido quando comparado à água destilada, da mesma forma que encontrado a 23°C.

#### 5.1.5.2.2 - CINÉTICAS DE 1ª E 2ª ORDEM

Assumindo o processo de intumescimento como sendo cinética de primeira ordem, obtemos a constante do processo de intumescimento K<sub>s</sub> a partir da Equação 8, tomada agora em 37°C. A Tabela 17 apresenta os parâmetros da cinética de 1ª ordem, ou seja, os valores de k<sub>s</sub> e do coeficiente de regressão linear R<sup>2</sup> obtidos para cada hidrogel.

Tabela 16: Parâmetros da cinética de 1ª ordem obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC, a 37°C.

		<b>k (10<sup>2</sup>) (min<sup>-1</sup>)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Pnipam VC1</b>	Água	2,03 ± 0,02	0,9828
	Solução NaCl 0,9%	2,16 ± 0,02	0,9857
	PBS	60,53 ± 6,99	0,93663
<b>Pnipam VC2</b>	Água	2,03 ± 0,02	0,9818
	Solução NaCl 0,9%	1,98 ± 0,02	0,9812
	PBS	4,43 ± 0,03	0,9828
<b>Pnipam VC3</b>	Água	3,31 ± 0,06	0,9753
	Solução NaCl 0,9%	1,47 ± 0,03	0,9604
	PBS	16,94 ± 1,23	0,9954

Assumindo que o intumescimento seja de segunda ordem e utilizando a Equação 10 encontramos os parâmetros da cinética de 2ª ordem para os hidrogéis a 37 °C, cujos valores são apresentados na Tabela 18.

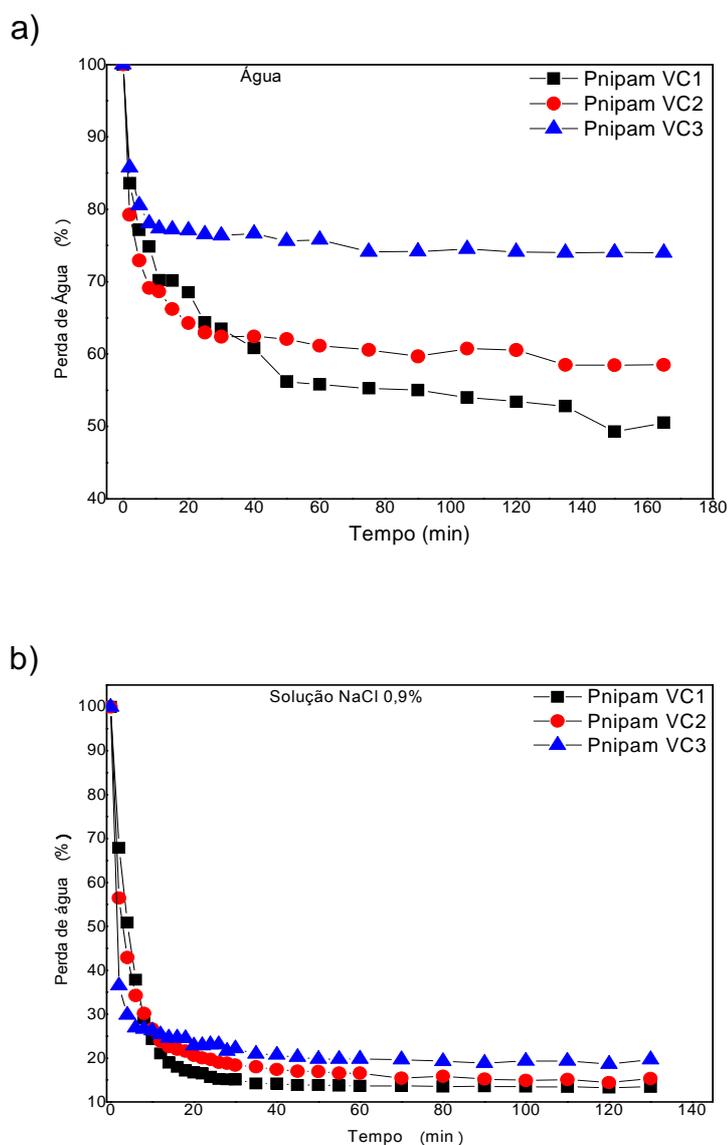
Da mesma forma que a 23 °C, após comparação dos valores de regressão linear das cinéticas de 1ª e 2ª ordem, podemos concluir que os valores obtidos do intumescimento no tempo ajustam-se mais adequadamente à cinética de 2ª ordem, onde o processo é controlado pela relaxação que ocorre no sistema durante o processo de absorção de determinado solvente (SCHOTT, 1991) (CREMONEZ, BENTLEY e LARA, 2013).

Tabela 17: Parâmetros da cinética de 2ª ordem obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC, a 37°C.

		<b>1/K<sub>00</sub> (10<sup>2</sup>)</b>	<b>K</b>	<b>1/I<sub>e</sub> (10<sup>4</sup>)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Pnipam VC1</b>	Água	2,11 ± 0,08	3,1 *10 <sup>-6</sup>	7,38 ± 0,03	0,9975
	Solução NaCl 0,9%	2,54 ± 0,12	3,9*10 <sup>-6</sup>	9,13 ± 0,05	0,9970
	PBS	(7,52±0,11)*10 <sup>-3</sup>	4,39	187,8 ± 0,1	0,9999
<b>Pnipam VC2</b>	Água	2,34 ± 0,11	1,94 *10 <sup>-5</sup>	0,60 ± 0,04	0,9950
	Solução NaCl 0,9%	2,62 ± 0,10	4,43*10 <sup>-5</sup>	10,1 ± 0,04	0,9982
	PBS	5,05 ± 0,19	1,52*10 <sup>-3</sup>	87,1 ± 0,01	0,9995
<b>Pnipam VC3</b>	Água	0,51 ± 0,04	1,32*10 <sup>-4</sup>	8,34 ± 0,02	0,9995
	Solução NaCl 0,9%	9,91 ± 0,31	7,29 *10 <sup>-5</sup>	24,4 ± 0,01	0,9973
	PBS	132,3 ± 0,05	1,29*10 <sup>-4</sup>	132,3 ± 0,28	0,9999

### 5.1.6 - CINÉTICA DE DESINTUMESCIMENTO – 45°C

Através da análise da cinética de desintumescimento é possível avaliar a resposta do material ao estímulo temperatura. A velocidade de resposta do material pode ser determinada submetendo a amostra a uma diferença abrupta de temperatura, realizando medidas sucessivas de massa. Para tal, hidrogéis de Pnipam intumescimentos no equilíbrio a 23 °C foram colocados nas respectivas soluções a 45°C, temperatura acima da LCST, e o comportamento estudado. A perda de água foi determinada a partir da Equação 19 e os resultados apresentados na Figura 45.



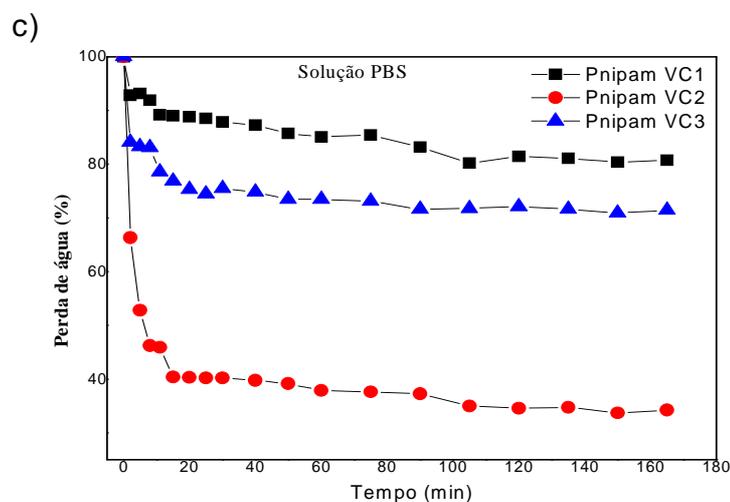


Figura 45: Cinética de desintumescimento dos hidrogéis de Pnipam VC em a) Água Destilada, b) Solução NaCl 0,9% e c) PBS, a 45°C.

Observa-se que uma grande quantidade de solução é imediatamente liberada pelos hidrogéis após serem imersos em solução a 45°C. Após esse processo, ocorre a formação de uma densa camada hidrofóbica nos estágios iniciais do processo de desintumescimento e a perda de água torna-se muito mais lenta até finalmente atingir o equilíbrio (ZHANG, YANG e CHUNG, 2002).

Podemos observar que, quando imersos em água e NaCl 0,9%, a Pnipam VC1 apresenta resposta mais rápida que a Pnipam VC2, que por sua vez, responde mais rapidamente que a Pnipam VC3. Em água, o hidrogel Pnipam VC1 perde cerca de 30% de água nos primeiros 10 minutos, enquanto que a Pnipam VC2 e a Pnipam VC3 perdem 32 e 23%, respectivamente. Quando imersos em solução NaCl 0,9% a perda de solução é mais evidente, atingindo maiores percentuais, sendo que já nos primeiros 10 minutos ocorre perda média de 75% para os hidrogéis.

Para os hidrogéis em solução de PBS, verifica-se que a Pnipam VC2 possui resposta mais rápida que a Pnipam VC3, que por sua vez, responde mais rapidamente que a Pnipam VC1. O processo de desintumescimento é mais lento quando colocados em PBS, sendo que nos primeiros 10 minutos perde-se cerca de 11, 55 e 22% de solução para a Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, respectivamente.

Em todos os hidrogéis após atingir o equilíbrio, algum percentual de solução ainda permanece na estrutura, valores estes apresentados na Tabela 18.

Tabela 18: Percentual de solução residual nos hidrogéis de Pnipam VC.

	Perda de água (%)		
	Pnipam VC1	Pnipam VC2	Pnipam VC3
<b>Água Destilada</b>	50	58	73
<b>Solução NaCl 0,9%</b>	13	15	20
<b>PBS</b>	80	71	34

A razão de contração, ou desintumescimento, é um fenômeno controlado pela difusão e depende da morfologia dos hidrogéis, estando relacionado com a morfologia interna dos hidrogéis (VARGHESE, ISMAIL, *et al.*, 2008). O processo de desintumescimento é assumido como sendo uma cinética de primeira ordem, sendo expressa pela Equação 18. Similar ao processo de intumescimento, o gráfico de  $\ln[(M_t - M_{e45}) / (M_{e23} - M_{e45})]$  em função do tempo fornece os valores da constante de desintumescimento  $K_d$ , apresentados na Tabela 19.

Tabela 19: Constantes de Desintumescimento obtidas para os hidrogéis de Pnipam VC, a 45°C.

		$K_d (10^2)$	$R^2$
<b>Água Destilada</b>	Pnipam VC1	$5,94 \pm 0,04$	0,9932
	Pnipam VC2	$20,84 \pm 0,07$	0,9994
	Pnipam VC3	$32,21 \pm 0,43$	0,9954
<b>Solução NaCl 0,9%</b>	Pnipam VC1	$21,48 \pm 0,04$	0,9997
	Pnipam VC2	$28,14 \pm 0,27$	0,9961
	Pnipam VC3	$78,47 \pm 1,34$	0,9952
<b>PBS</b>	Pnipam VC1	$2,88 \pm 0,03$	0,9925
	Pnipam VC2	$28,64 \pm 0,12$	0,9994
	Pnipam VC3	$12,27 \pm 0,13$	0,9925

Observa-se que os valores da constante de desintumescimento são muito maiores que na cinética de intumescimento. Quando colocados em solução a 45°C, temperatura superior à temperatura de transição de fases, o processo de liberação do solvente da estrutura mostra-se mais rápido que o processo de intumescimento.

Os valores da constante de desintumescimento,  $k_d$ , mostra quão rápido o material responde ao estímulo da temperatura. Como visto anteriormente através das curvas de perda de água em função do tempo, observa-se que o valor de  $K_d$  aumenta de Pnipam VC1 para Pnipam VC2 e para Pnipam VC3 quando as amostras intumescidas são colocadas em água e em NaCl 0,9 %. Ainda com relação a estas soluções, é possível verificar que os valores de  $K_d$  para os hidrogéis em solução

NaCl 0,9 % são maiores que em água, reafirmando o fato de que a perda de água em solução NaCl 0,9 % é mais rápida que em água, atingindo maiores percentuais. Com relação as amostras em solução PBS podemos ver que a  $k_d$  para a Pnipam VC2 é maior que para a Pnipam VC3 e, por sua vez, que para a Pnipam VC1, conforme visto nas curvas de perda de água em função do tempo.

### 5.1.7 - ENSAIOS REOLÓGICOS

A análise do comportamento reológico de hidrogéis é útil principalmente na caracterização de sistemas injetáveis. Em geral, os estudos de reologia são feitos para a análise da formação de um gel, resultado da transformação de um líquido em gel (sol-gel), sendo monitorado o processo de gelificação (MOREIRA, 2014). Neste trabalho, não usamos soluções líquidas para a análise, mas hidrogéis de Pnipam já reticulados durante a síntese dos mesmos, o que dificulta a análise. Os hidrogéis utilizados nas análises foram intumescidos em água até atingirem o equilíbrio e nesse processo o formato das amostras foi irregular, sendo desigual para diferentes amostras. Isso pode levar também a diferentes resultados. Além disso, pudemos observar a presença de bolhas de ar nas amostras, o que também interfere nos resultados.

A componente  $G'$ , denominada módulo de armazenamento ou módulo elástico, é uma medida da energia de deformação elástica reversível, enquanto que a componente  $G''$ , chamada de módulo viscoso ou módulo de perda, representa uma medida da energia irreversível dissipada durante o fluxo (MAGALHÃES, 2009).

A fim de avaliar as propriedades viscoelásticas dos hidrogéis foram realizados ensaios para obter a região viscoelástica linear dos hidrogéis, ou seja, a região em que  $G'$  e  $G''$  independem da tensão aplicada. A Figura 46 apresenta os valores de  $G'$  e  $G''$  em função da tensão de cisalhamento aplicada para os hidrogéis de Pnipam VC, obtidos a 20°C. Podemos identificar uma região de viscoelasticidade linear para tensões abaixo de 10 Pa.

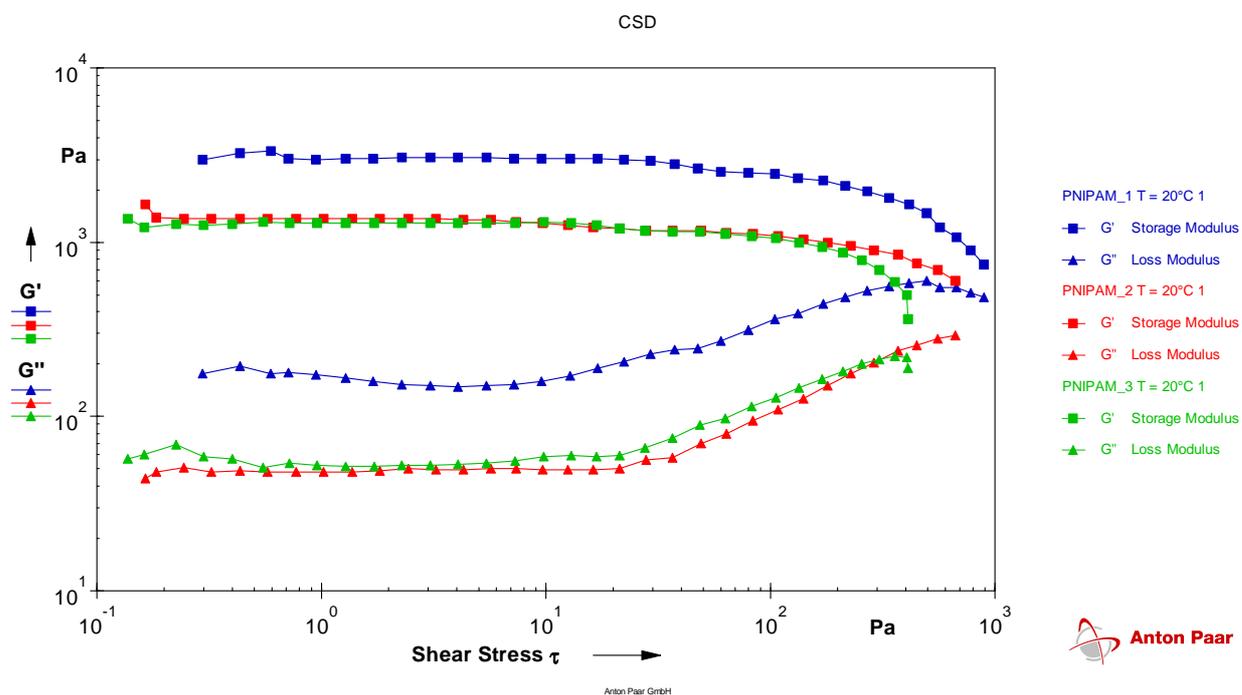


Figura 46: Variação do módulo elástico  $G'$  e de perda  $G''$  em função da tensão de cisalhamento aplicada para os hidrogéis de Pnipam VC, a 20 °C, a 10 rad s<sup>-1</sup>.

Para estudar o efeito da temperatura nas propriedades viscoelásticas dos hidrogéis foram realizados experimentos de varredura de temperatura, mantendo constantes a frequência e a tensão. A evolução dos módulos elástico  $G'$  e de perda  $G''$  foi acompanhada em função do aquecimento dos hidrogéis de 20 a 40°C. A Figura 47 apresenta a evolução dos módulos  $G'$  e  $G''$  em função do aquecimento para os hidrogéis de Pnipam VC.

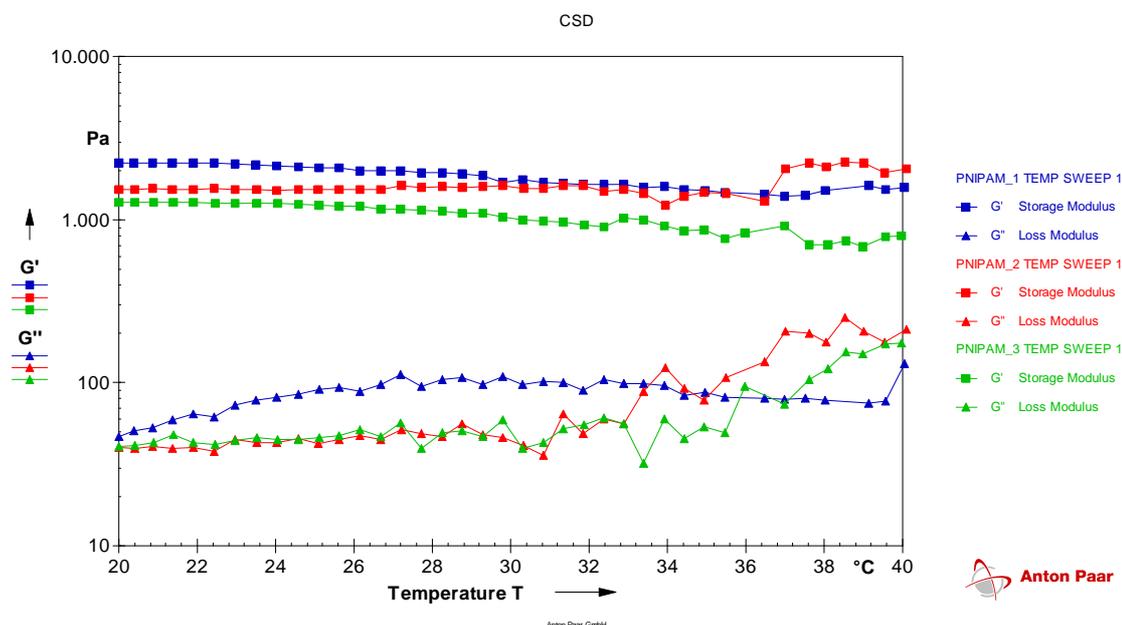


Figura 47: Variação do módulo elástico  $G'$  e de perda  $G''$  em função da temperatura para os hidrogéis de Pnipam VC, deformação de 0,01.

Os valores dos módulos elástico,  $G'$  e dos módulos de perda,  $G''$  obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC, a 20, 37 e 40 °C são apresentados na Tabela 20.

Tabela 20: Valores dos módulos elástico  $G'$  e de perda  $G''$  obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC a 20, 37 e 40 °C.

Temperatura (°C)	20		37		40	
	$G'$	$G''$	$G'$	$G''$	$G'$	$G''$
Pnipam VC1	2223	46	1381	79	1583	130
Pnipam VC2	1536	39	2040	208	2052	213
Pnipam VC3	1275	41	699	105	801	174

Observa-se que para todos os hidrogéis o valor de  $G'$  é muito maior que o valor de  $G''$ , ou seja, o comportamento elástico predomina sobre o comportamento viscoso, refletindo a existência de uma rede tridimensional elástica (GARCÍA\_ASTRAIN, CHEN, *et al.*, 2015). Quanto maior o valor de  $G'$  maior o caráter sólido do gel e as deformações serão elásticas ou recuperáveis. A reticulação restringe mecanicamente a mobilidade das moléculas poliméricas, aumentando o valor do módulo de armazenamento e reduz o defasamento viscoelástico entre a tensão e a deformação (DINU, SCHWARTZ, *et al.*, 2012). Um hidrogel consistindo de uma rede polimérica tridimensional em um solvente imobilizado dentro dessa rede representam um material viscoelástico (MAGALHÃES, 2009).

Teoricamente, espera-se que o valor do módulo elástico aumente com a temperatura, devido a ocorrência da transição de fases. Porém, este comportamento somente se observa para a Pnipam VC2 (MAGALHÃES, 2009). Para os hidrogéis Pnipam VC1 e Pnipam VC3 observa-se redução no valor do módulo elástico  $G'$ , que pode estar associado à ocorrência de sinerese. Esse fenômeno é descrito como sendo a liberação de água pela estrutura. Durante o processo de aquecimento, ocorre rearranjo da estrutura tridimensional dos hidrogéis, com a contração da rede e diminuição do tamanho dos poros presentes, o que leva a exclusão da água presente, que se move para a superfície. Como este fenômeno ocorre simultaneamente às medidas reológicas, ocorre redução na área de contato entre o hidrogel e a placa, o que pode afetar consideravelmente os valores de  $G'$  e  $G''$  (GUERREIRO, 2007). A sinerese é um fenômeno comum aos hidrogéis de Pnipam reticulados quimicamente (GAN, GUAN e ZHANG, 2010). Além disso, observa-se que a amostra deforma-se ao ser comprimida pela placa do reômetro, perdendo sua integridade, formando pequenos aglomerados. Puleo e colaboradores observaram fenômeno semelhante quando submeteram amostras de Pnipam aos testes de compressão, conforme pode ser visualizado na Figura 48.



Figura 48: Imagem representativa da deformação sofrida pelo hidrogel quando aplicada força de compressão.

Na Figura 49 é apresentado gráfico da viscosidade dos hidrogéis intumescidos em água em função da temperatura. De modo geral, observa-se que a viscosidade aumenta conforme aumento da temperatura, de forma mais evidente para os hidrogéis Pnipam VC2 e Pnipam VC3.. Este fato pode estar relacionado à diminuição ou desaparecimento de ligações intermoleculares de hidrogênio entre a Pnipam e a água, levando à melhor dissolução em água e às interações hidrofóbicas entre os grupos isopropil da Pnipam, que conforme aumento da temperatura promovem a agregação intermolecular das cadeias da Pnipam. A formação desses agregados leva às redes físicas, resultando em alta viscosidade e no comportamento de espessamento da solução

com a temperatura, chamado de comportamento “*thermothickening*”. Comportamento semelhante foi encontrado por Bruna Lima para blendas formadas por 50% de Pnipam e por 50% de CMC (carboximetilcelulose) (BOKIAS, MYLONAS e STAIKOS, 2001), (DE LIMA, 2014). Zhang e colaboradores encontraram comportamento *thermothickening* para soluções formadas por Pnipam e um copolímero de acrilamida hidrofobicamente modificado (HMPAM) (ZHANG, DUAN, *et al.*, 2009).

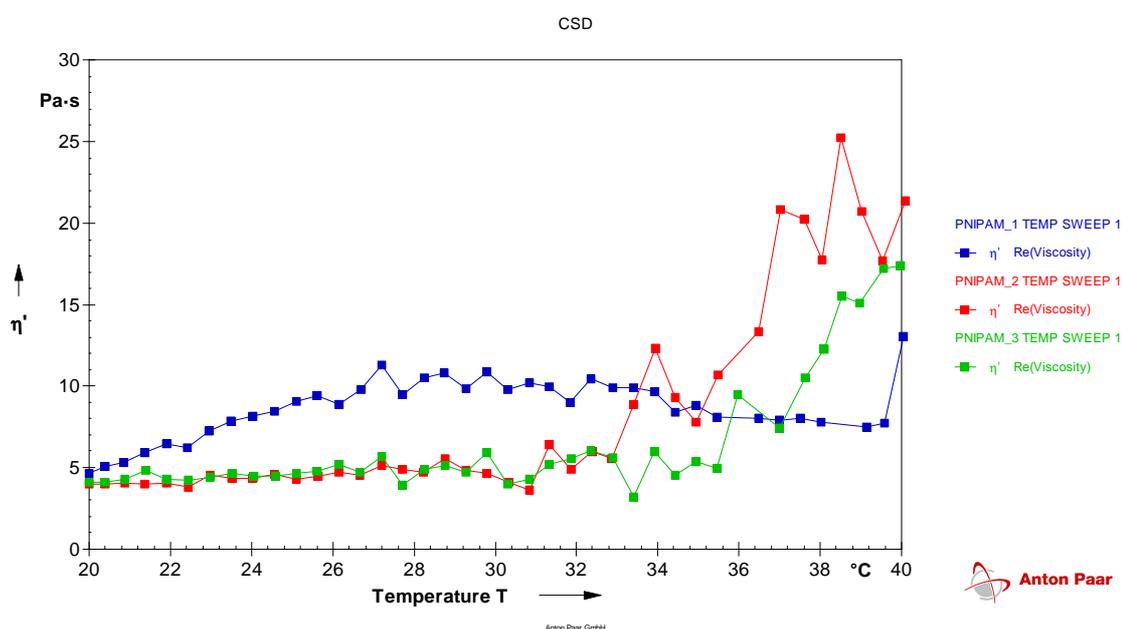


Figura 49: Viscosidade em função da temperatura obtidos para os hidrogéis de Pnipam VC.

### 5.1.8 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – MEV

As imagens de microscopia eletrônica de varredura dos hidrogéis de Pnipam VC são apresentadas nas Figuras 50-52. Devemos observar que as imagens foram feitas em amostras secas em estufa. Para visualizar a morfologia da estrutura porosa seria necessário o intumescimento do hidrogel seguido de congelamento e liofilização para que a estrutura porosa fosse mantida.

A superfície da Pnipam VC1, visualizada na Figura 50, apresenta diferentes morfologias. Em sua maior parte, a Pnipam VC1 mostra superfície rugosa, propriedade de materiais reticulados,

com partículas aglomeradas, de formato e tamanho irregulares. Também pode ser observada uma região de superfícies lisa e compacta.

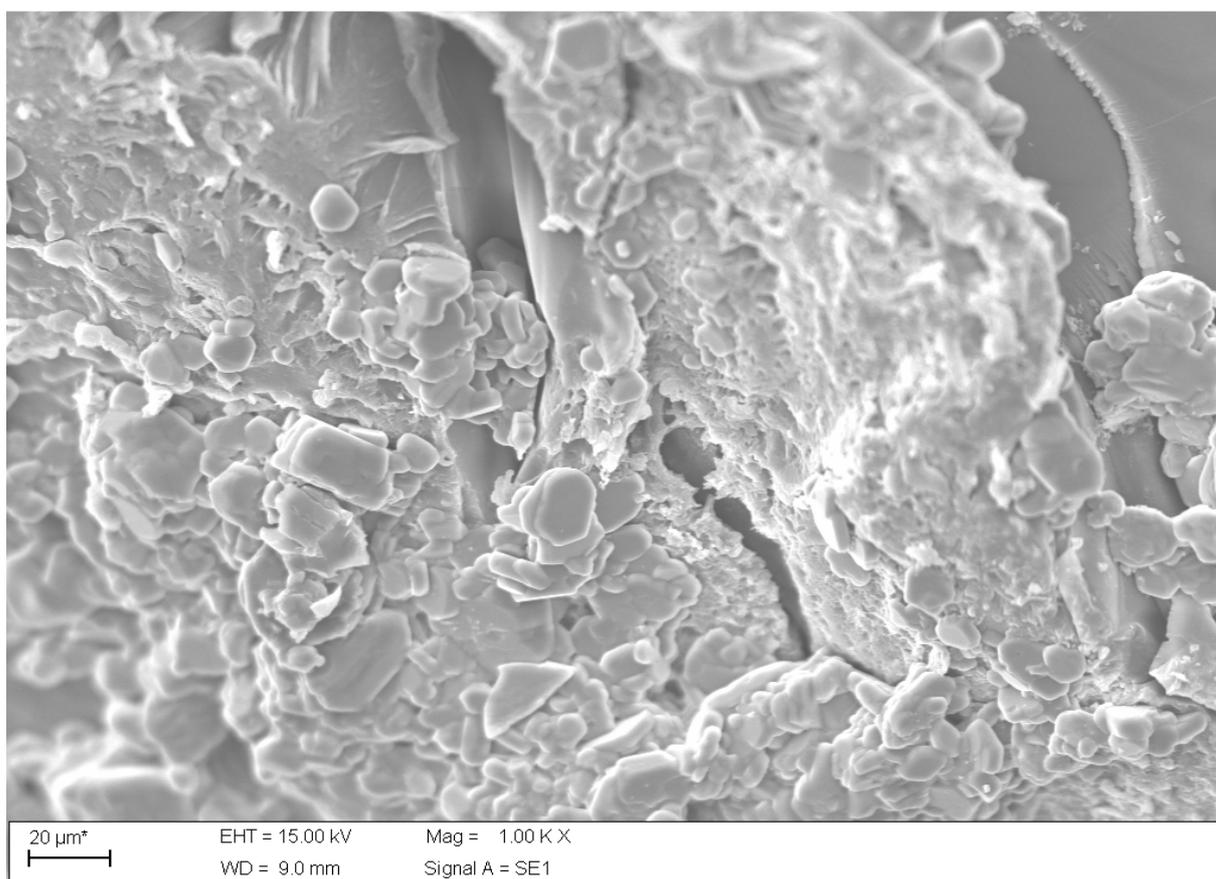


Figura 50: Micrografia MEV do hidrogel Pnipam VC1.

A micrografia MEV da Pnipam VC2, Figura 51, revela que o hidrogel apresenta rugosidade característica de polímeros reticulados, tendo estrutura irregular com microporos, irregularmente distribuídos. A micrografia mostra alguns aglomerados na superfície, com tamanhos e formatos irregulares. Nota-se que, em comparação a Pnipam VC1, a Pnipam VC2 mostra uma superfície mais homogênea e mais compacta.

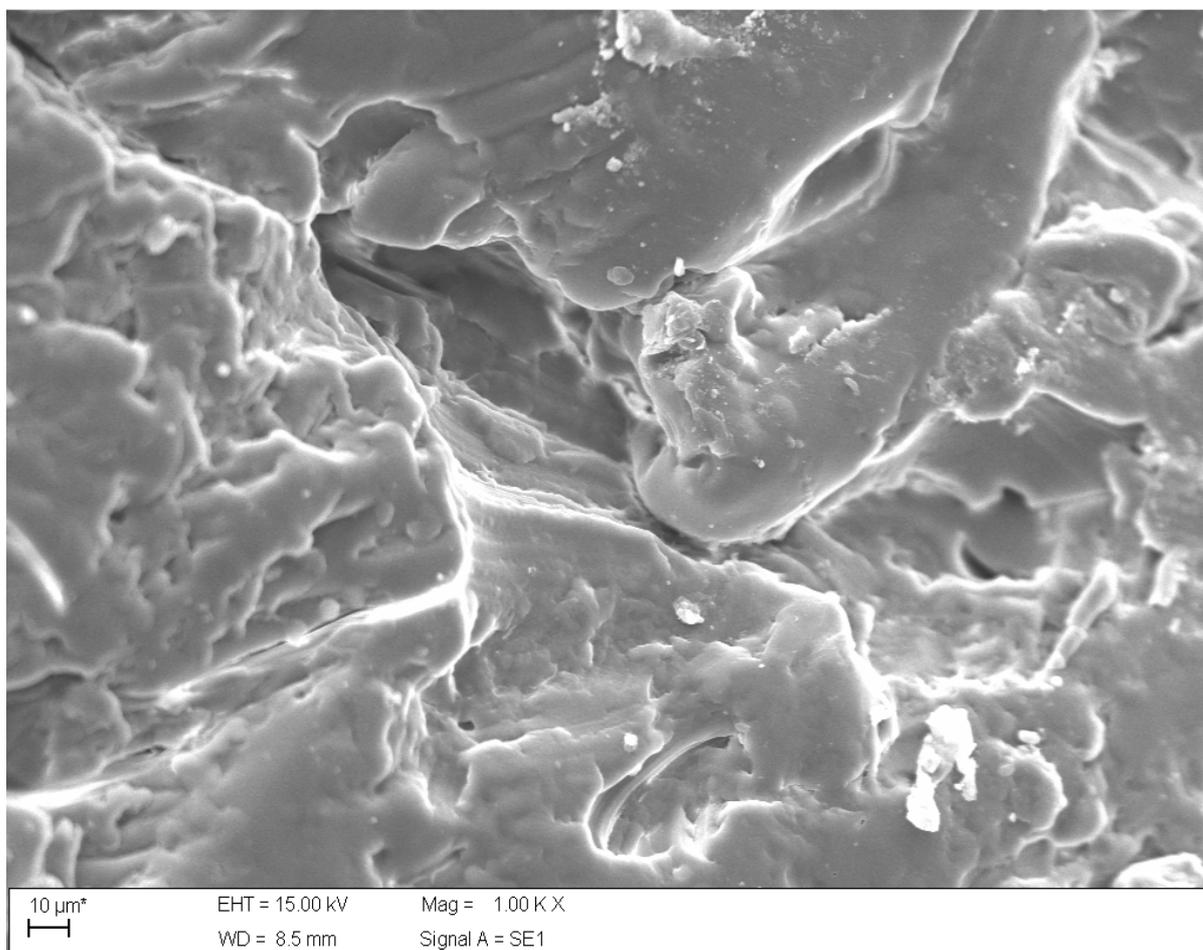


Figura 51: Micrografia MEV do hidrogel Pnipam VC2.

A Figura 52 apresenta a a micrografia MEV da Pnipam VC3. A Pnipam VC3 apresenta superfície lisa, compacta e sem poros aparentes. A superfície apresenta, ainda, placas finas aderidas, semelhante a fissuras, frestas, em camadas estratificadas. Em comparação a Pnipam VC1 e Pnipam VC2 observa-se que a Pnipam VC3 tem morfologia com diferenças significativas. A morfologia compacta encontrada pode explicar os baixos valores de intumescimento encontrados para a Pnipam VC3.

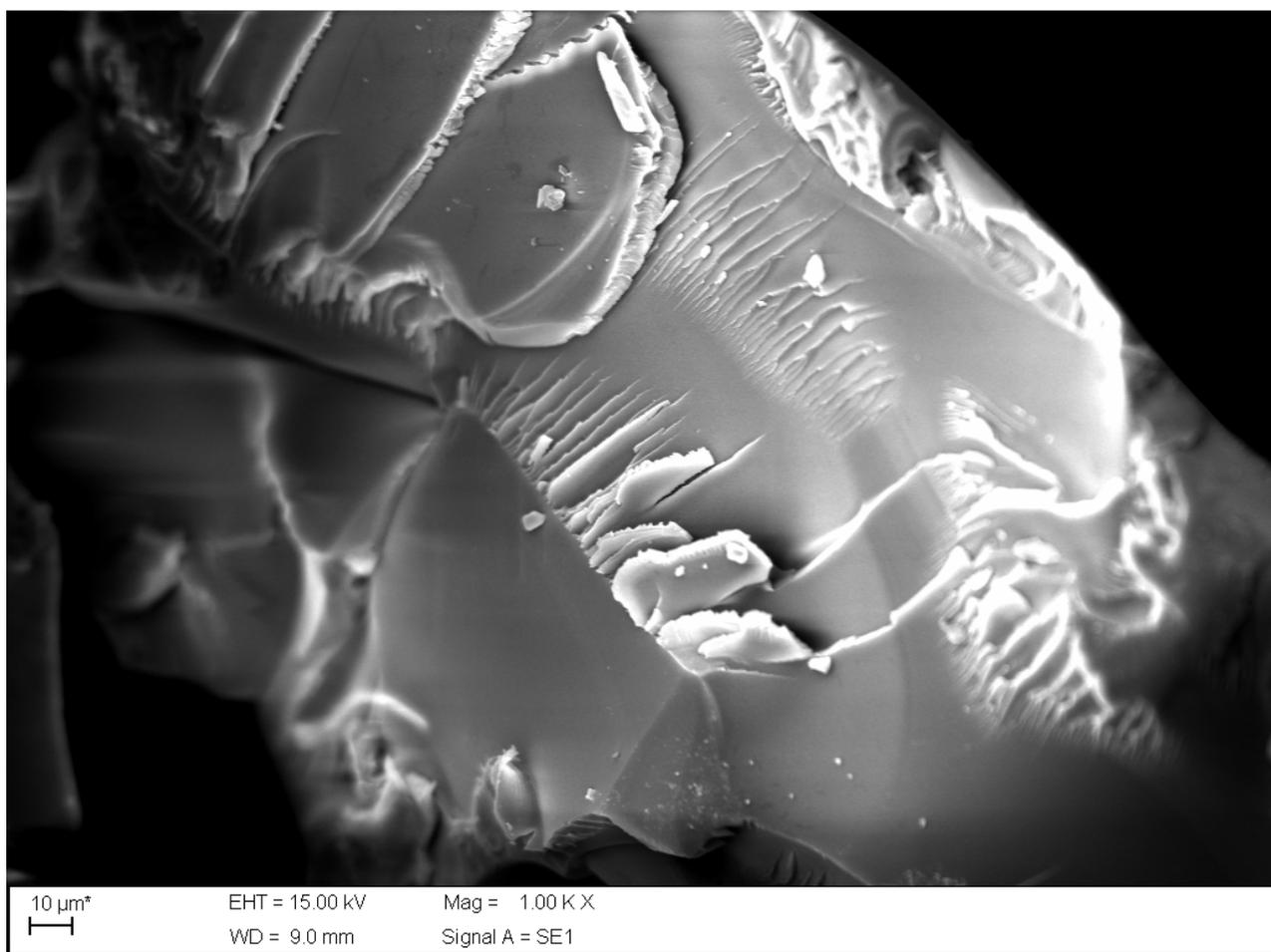
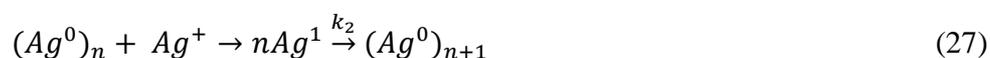


Figura 52: Micrografia MEV do hidrogel Pnipam VC3.

## 5.2 – SULFATO DE CONDROITINA E COMPLEXO SC-NPsAg.

### 5.2.1 - ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA VISÍVEL (UV-Vis)

A síntese do complexo SC-NPsAg foi realizada a partir da redução de íons  $Ag^+$  em meio aquoso utilizando o SC como agente redutor e estabilizante. As moléculas do SC são adsorvidas na superfície das NPsAg, formando um complexo SC-NPsAg. O crescimento das nanopartículas é um processo autocatalítico e o mecanismo inclui dois passos principais: a primeira uma lenta nucleação e segundo um rápido crescimento da superfície. Esses passos podem ser resumidos segundo Equações 26 e 27 abaixo, onde o SC, agente redutor e estabilizador, foi omitido:



O passo 1 é a nucleação e ocorre homogeneamente em solução e envolve a redução das espécies  $Ag^+$  a átomos de  $Ag^0$ , seguida pela sua agregação ao tamanho de núcleo crítico,  $(Ag^0)_n$ . Com o surgimento do núcleo, ocorre uma rápida redução autocatalítica, passo 2, na superfície das partículas em crescimento, limitando essa razão de crescimento (TATARCHUK, SERGIEVSKAYA, *et al.*, 2013).

A evolução gradual de formação das nanopartículas de prata foi monitorada usando espectroscopia de UV-Vis, uma vez que a banda plasmônica de superfície é diretamente dependente da geometria, da concentração e da distribuição do tamanho das nanopartículas. A Figura 53 mostra o espectro de absorção UV-Vis das nanopartículas de prata em diferentes tempos de reação.

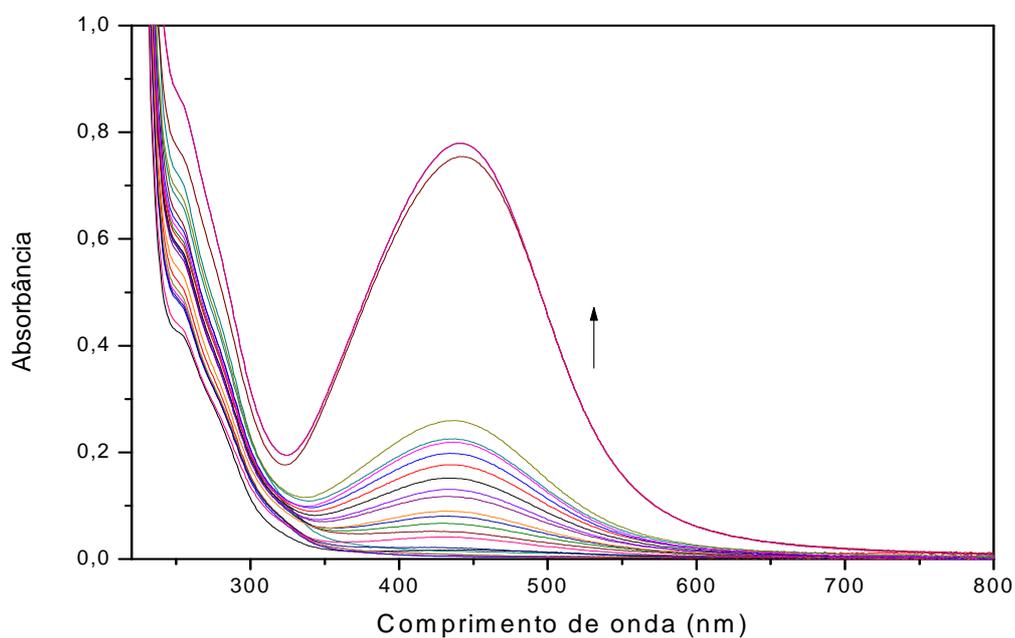


Figura 53: Espectros de absorção no UV-Vis de NPsAg durante o processo de formação.

O pico de ressonância de plasmon de superfície característico, inicialmente em torno de 440 nm, foi obtido, confirmando a formação das nanopartículas de prata. Uma variação gradual da cor de amarelo claro a amarronzado foi observado durante a reação, fato relacionado à excitação da banda plasmônica (Figura 54). Inicialmente, o pico máximo de absorção da banda plasmônica de superfície das nanopartículas foi observado em 440 nm, sendo posteriormente deslocado a maiores comprimentos de onda conforme aumento do tempo de reação, chegando a 452 nm para o tempo de 71 h de reação.

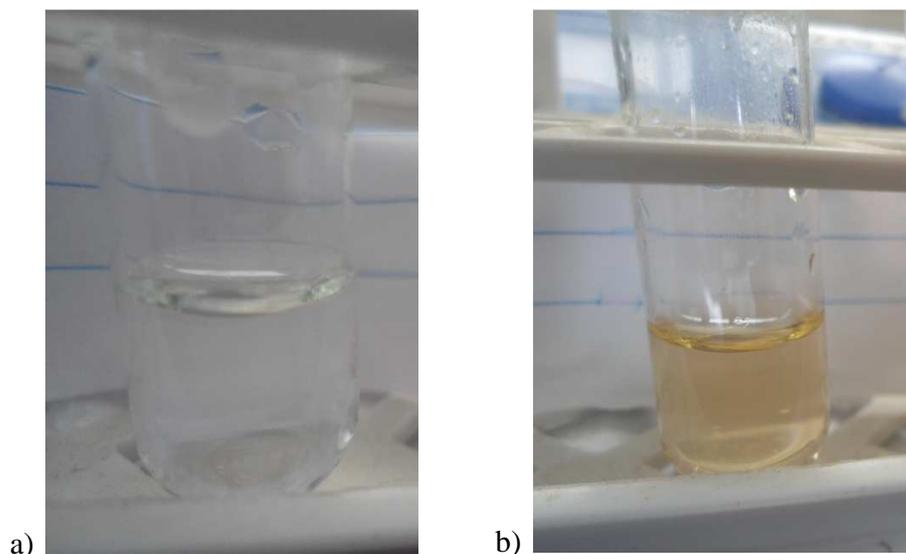


Figura 54: Variação da cor observada durante a formação das NPsAg; a) 10 min b) 300 min.

De acordo com a literatura, um aumento no tamanho das NPs resulta em um deslocamento da banda plasmônica para regiões de maior comprimento de onda. De acordo com a teoria de Mie, apenas uma única banda plasmônica é esperada no espectro de absorção de NPs esféricas, enquanto NPs anisotrópicas podem originar duas ou mais bandas, dependendo do formato (ANTUNES, DAL'ACQUA, *et al.*, 2013).

Maior largura dos picos indica agregação de partículas, o que pode ser observado conforme aumento do tempo de reação, sendo também observado maior valor da intensidade do pico de absorbância, o que está relacionado à maior quantidade de NPsAg formadas (MATSUSHITA, INABA, *et al.*, 2012).

O parâmetro de largura a meia altura, FWHM – *Full Width at Half Maximum*, é um parâmetro que pode fornecer informações sobre o grau de dispersão das NPsAg. A FWHM é a medida da largura da banda onde a absorbância equivale à metade da absorção máxima, indicando o grau de dispersão do tamanho de nanopartículas, ou seja, quanto menor a FWHM, mais estreito é o pico de absorção, e conseqüentemente, mais estreita é a distribuição de tamanho das partículas, obtendo-se partículas mais uniformes (DE SÁ, BOLZAN e MACHADO, 2014). Observa-se que, com o decorrer da reação, as NPsAg apresentam pico de plasmon, SPR, em maiores comprimentos de onda e com maiores valores de absorbância, indicando que os tamanhos das partículas tornam-se cada vez maiores, com polidispersão média de 140 nm.

Espectros de UV-Vis foram realizados após a síntese (curvas não apresentadas) e não mostraram nenhum sinal de agregação, indicando que as nanopartículas de prata reduzidas por SC permanecem estáveis.

Realizamos o estudo cinético de formação das NPsAg nos estágios iniciais do processo, ou seja, na etapa de nucleação. A Figura 55 apresenta a relação entre a absorbância referente ao comprimento de onda máximo e o tempo de reação, de reação.com destaque para os tempos iniciais

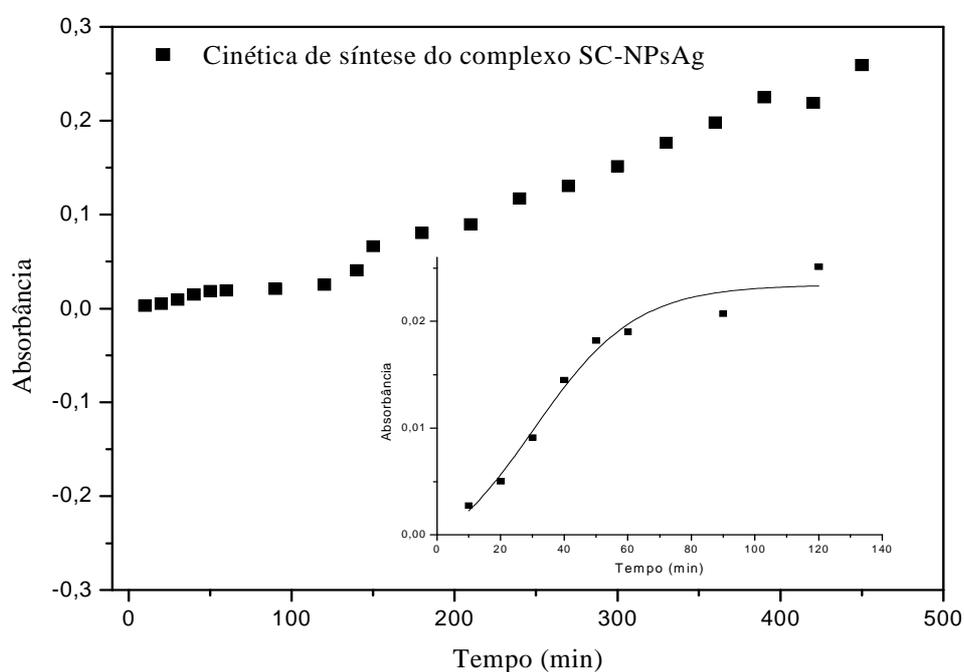


Figura 55: Cinética de síntese do complexo SC-NPsAg, com destaque para os tempos iniciais de reação.

A cinética de formação de NPsAg pode ser definida a partir da reação,  $Ag^+ + 1e = Ag^0$ , a partir da qual obtemos:

$$-\frac{d[Ag^+]}{dt} = k[Ag^+] \quad (28)$$

Resolvendo a integral da equação acima, Equação 28, e levando em consideração a Equação 27, temos que:

$$\ln \frac{[Ag^+]_t}{[Ag^+]_0} = -kt \quad (29)$$

onde  $[Ag^+]_t$  e  $[Ag^+]_0$  referem-se as concentrações de íons  $Ag^+$  no tempo  $t$  e no início do experimento, respectivamente;  $k$  é a constante de velocidade e  $t$  o tempo da reação. Considerando que a concentração de íons  $Ag$  no tempo:

$$[Ag^+]_t = [Ag^+]_0 - [Ag^0]_t \quad (30)$$

onde  $[Ag^0]$  é a concentração de NPsAg formadas no tempo, através da lei de Lambert-Beer, podemos estudar a cinética de síntese das NPsAg.

$$\ln \left( 1 - \frac{[Ag^0]_t}{[Ag^+]_0} \right) = kt \quad (31)$$

Assim, a curva obtida através da Equação 31 para os tempos iniciais de reação, gráfico inserido na Figura 55, fornece os valores da constante de velocidade da reação, obedecendo a uma cinética de primeira ordem. O valor da constante de velocidade  $k$  obtido foi de  $0,0259 \text{ min}^{-1}$  e o coeficiente de regressão linear  $R^2$  foi de  $0,9808$  para a cinética de formação das nanopartículas de prata.

### 5.2.2 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER - FTIR

A Figura 56 apresenta o espectro FTIR do sulfato de condroitina (SC). O espectro FTIR mostra uma banda larga em cerca de  $3305 \text{ cm}^{-1}$  referente à vibração de estiramento dos grupos -OH e -NH, no qual o estiramento do grupo -OH sobrepõe-se ao estiramento do grupo N-H. O SC possui bandas características em  $1650 \text{ cm}^{-1}$ , gerada pelo grupo Amida I, banda em  $848 \text{ cm}^{-1}$ ,

correspondente à vibração da ligação C-O-S, banda em  $1235\text{ cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento assimétrico do grupo S=O, e banda de vibração em  $1147\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento simétrico do grupo S=O. As bandas em cerca de  $1076\text{ cm}^{-1}$  e  $1418\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas à vibração de estiramento da ligação C-O. O pico em  $1370\text{ cm}^{-1}$  é referente ao acoplamento entre os grupos OH. O forte pico de absorção em cerca de  $1010\text{ cm}^{-1}$  é atribuído aos grupos C-OH (POTTER, KIDDER, *et al.*, 2001) (NETO, RIBEIRO e ZUCOLOTTI, 2008) (FERNANDES, 2009) (CRISPIM, PIAI, *et al.*, 2012) (RIBEIRO, BARBAGLIO, *et al.*, 2012) (HO, BREMMELL, *et al.*, 2015).

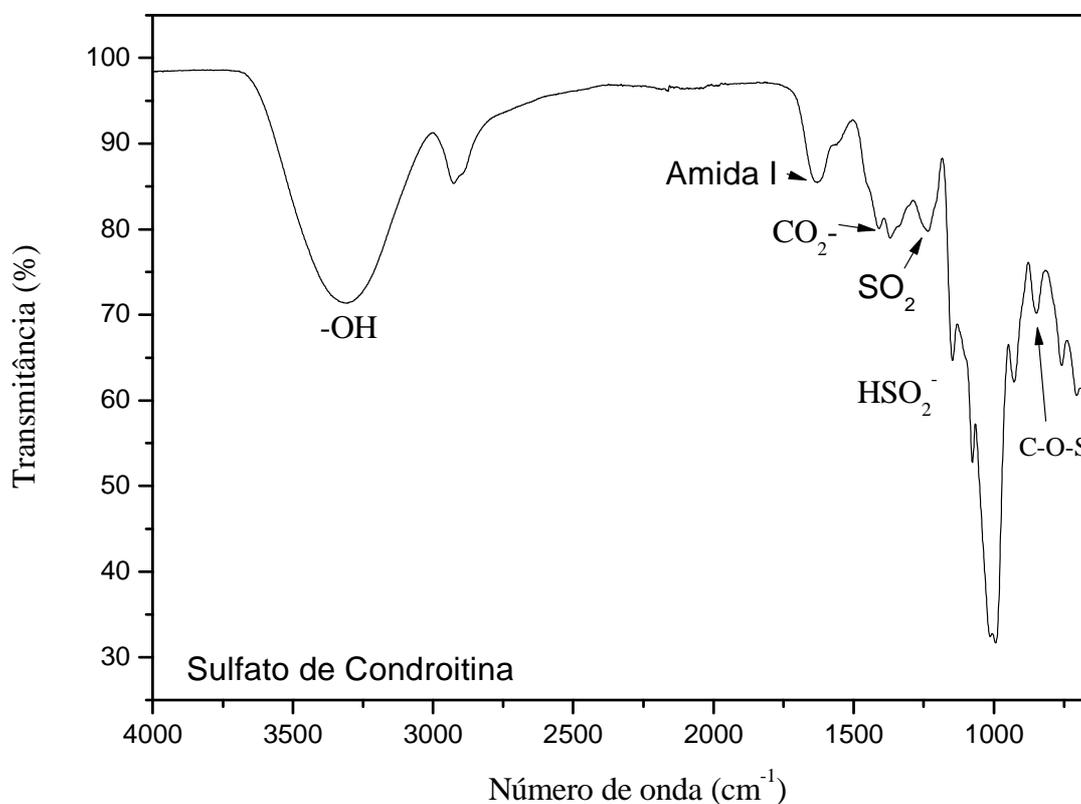


Figura 56: Espectro FTIR do fármaco Sulfato de Condroitina.

A presença e interação das nanopartículas de prata foi confirmada através de deslocamentos nas bandas do SC após a síntese verde. O espectro FTIR do complexo SC-NPsAg, Figura 57, mostra deslocamentos da banda referente à Amida I de  $1632\text{ cm}^{-1}$  para  $1638\text{ cm}^{-1}$ ; da banda

atribuída ao estiramento assimétrico da ligação  $\text{SO}_2$  de  $1235 \text{ cm}^{-1}$  para  $1242 \text{ cm}^{-1}$ . Além disso, as bandas atribuídas à vibração de estiramento e acoplamento do grupo hidroxila OH em  $2924 \text{ cm}^{-1}$  e  $1370 \text{ cm}^{-1}$ , são deslocadas para  $2927 \text{ cm}^{-1}$  e  $1363 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Também é possível observar que a intensidade das bandas diminui com a formação do complexo, fato associado à menor refletância (SINGH e RAWAT, 2016). Essas diferenças indicam que se estabelece uma forte interação química entre o átomo de prata e o átomo de oxigênio dos grupos sulfato e dos grupos carboxila presentes no SC. Dessa forma, as moléculas de SC são fortemente adsorvidas na superfície das partículas de prata, evitando a aglomeração das mesmas (CHENG, HUNG, *et al.*, 2014). Esses resultados confirmam ainda que o SC atua como agente estabilizador, desempenhando um importante papel na formação e crescimento das nanopartículas de prata.

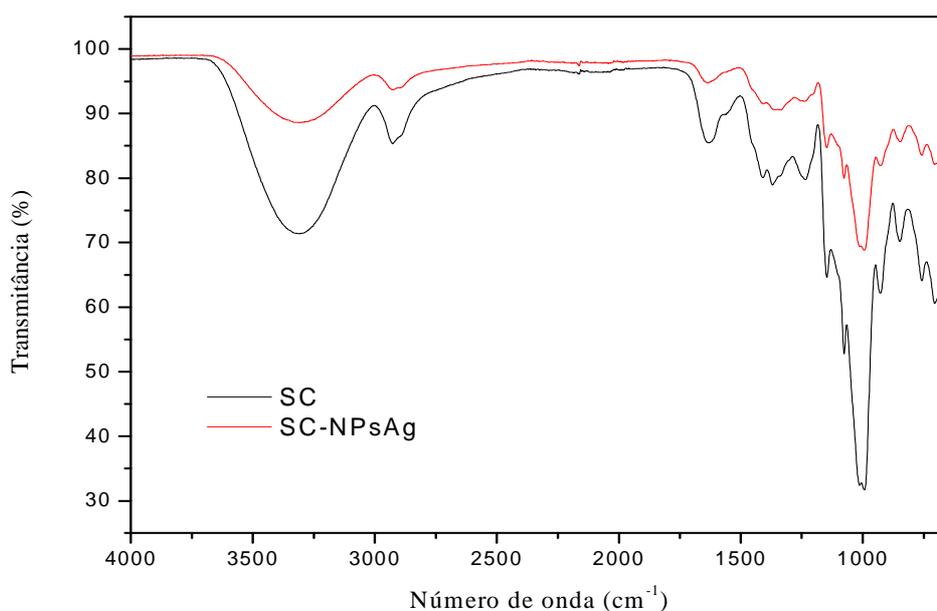


Figura 57: Espectro FTIR comparativo entre o SC e o complexo SC-NPsAg formado.

## 5.2.3 - ANÁLISE TÉRMICA

### 5.2.3.1 - ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

A estabilidade térmica do sulfato de condroitina (SC) foi estudada por análise termogravimétrica -TGA. As curvas termogravimétricas estão apresentadas na Figura 58.

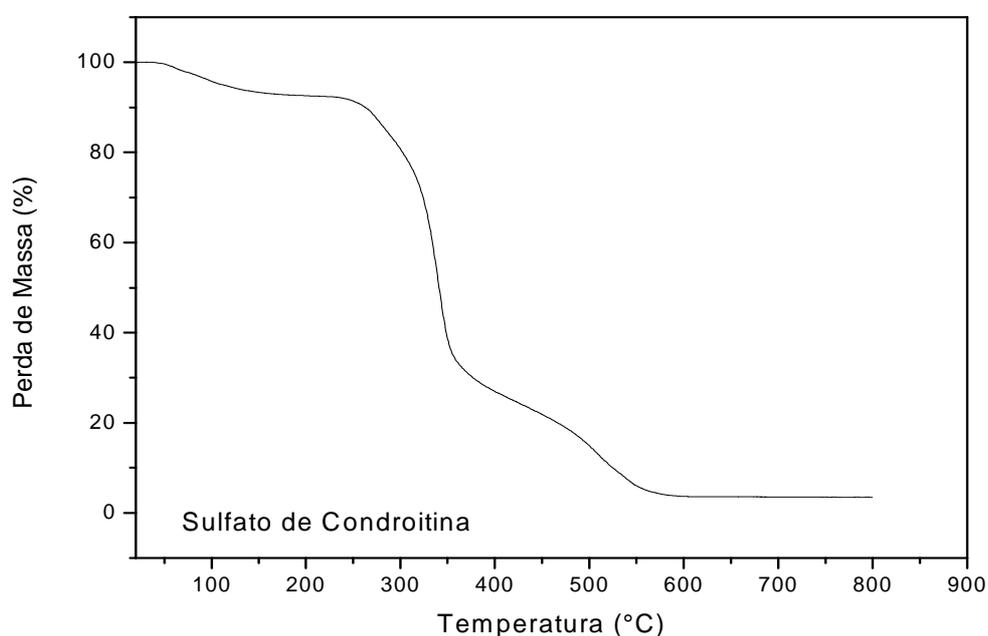


Figura 58: Curva termogravimétrica TG do Sulfato de Condroitina.

Os dados termogravimétricos obtidos a partir das curvas TG para o sulfato de condroitina estão apresentados na Tabela 21.  $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$  correspondem às faixas de temperatura, em °C e  $P_1$ ,  $P_2$  e  $P_3$  indicam as perdas percentuais de massa dos estágios 1, 2 e 3, respectivamente.

Tabela 21: Dados termogravimétricos do sulfato de condroitina.

Amostra	Estágio 1		Estágio 2		Estágio 3		Massa residual (%)
	$T_1$	$P_1$	$T_2$	$P_2$	$T_3$	$P_3$	
Sulfato de Condroitina	0-160	6,9	230-590	88,5	590-800	0,3	3,5

Observam-se três principais etapas de perda de massa para o sulfato de condroitina. Na primeira etapa, compreendida entre as temperaturas ambiente e 160 °C, ocorre perda de massa de cerca de 6,9%, correspondendo à perda da água presente, visto que o SC possui grupos  $-\text{COO}^-$  e  $-\text{OSO}_3^-$  que são altamente hidrofílicos e podem interagir fortemente com moléculas de água. O SC se mantém estável até 240 °C, quando se inicia o processo de decomposição térmica, o Estágio 2. Segundo Zohuriaan e Shokrolahi os polissacarídeos iniciam seu estágio de decomposição em temperaturas a partir de 200 °C, assim como observado para o SC (ZOHURIAAN e SHOKROLAHI, 2004).

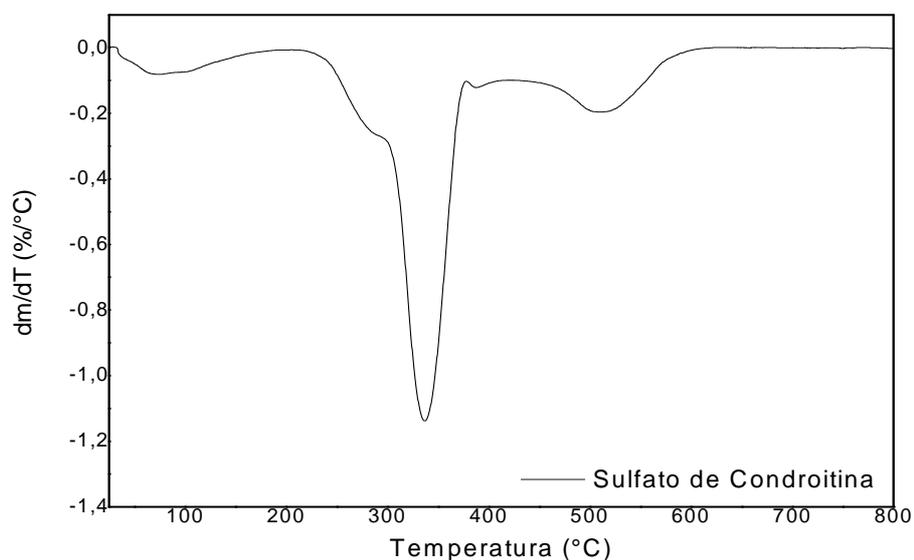


Figura 59: Curva DTG obtida para o sulfato de condroitina.

O estágio 2, entre 240 e 590 °C corresponde a maior perda de massa, cerca de 88,5% da massa inicial. O intervalo de degradação do SC entre 240 e 305 °C corresponde a uma perda de massa de 14,3% (WANG, SHEN e LU, 2003) (PIAI, 2008) (JARDIM, 2013). Entre 305 e 470°C ocorre a maior perda de massa do estágio 2, sendo de cerca de 58,8%. Na curva de termogravimetria derivada DTG, apresentada na Figura 59, é possível observar o principal pico de perda de massa em 340 °C, valor próximo à temperatura de 352 °C, valor considerado a temperatura de degradação

do SC (CHANG, 2008) (JO, KIM e NOH, 2012). Já no intervalo de temperaturas, entre 470 e 590 °C, ocorre perda de massa de 15,4%.

Entre 490 e 800 °C, ocorre perda de 0,3% da massa inicial. A 800 °C temos uma massa residual de 3,5%, provavelmente devido a formação de resíduos sulfatados.

A curva TGA do complexo SC-NPsAg é apresentada na Figura 60 e os dados termogravimétricos obtidos a partir das curvas TG apresentados na Tabela 22.

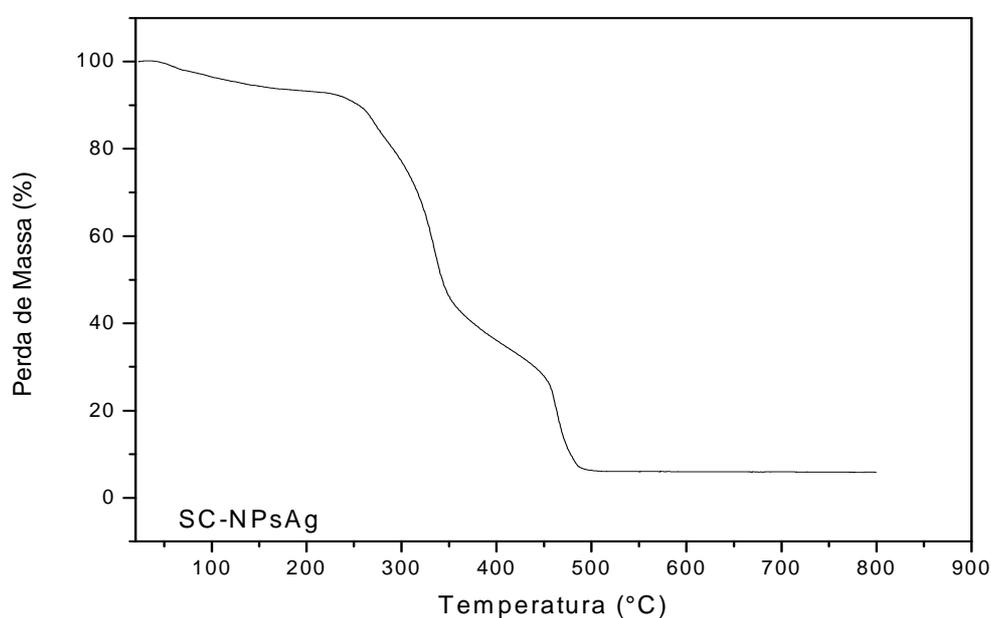


Figura 60: Curva termogravimétrica TG do complexo SC-NPsAg.

Podemos observar que o complexo SC-NPsAg possui três principais estágios de perda de massa. Na primeira etapa, compreendida entre as temperaturas ambiente e 210 °C, ocorre perda de massa de cerca de 6,9%, correspondendo à perda da água presente no complexo. A curva TGA mostra que o complexo inicia a degradação em 210 °C e este estágio se estende até cerca de 500 °C, correspondendo a faixa de temperatura onde ocorre a maior degradação do complexo, com perda de 87,2% da massa inicial.

Tabela 22: Dados termogravimétricos do complexo SC-NPsAg.

Amostra	Estágio 1		Estágio 2		Estágio 3		Massa residual (%)
	T <sub>1</sub>	P <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	P <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	P <sub>3</sub>	
SC-NPsAg	0-210	6,9	210-500	87,2	500-800	0,1	5,8

O segundo estágio pode ser subdividido em três faixas de temperatura, onde ocorrem diferentes picos de perda de massa evidenciados na curva DTG, apresentada na Figura 61, possivelmente causadas pela interação entre o Sulfato de Condroitina e as nanopartículas de prata obtidas (LEMOS, GALLARRETA, *et al.*, 2015). Entre 210 e 300 °C temos perda de massa de 16,5%. A segunda subdivisão, entre 300 e 400 °C possui pico de perda de massa evidenciado em 333 °C, e corresponde a uma perda de massa de 40,9%. A terceira subdivisão compreende o intervalo de temperatura entre 400 e 500 °C, com perda de massa de 29,8%, com pico mais evidente em 463 °C. Entre 500 e 800 °C, não ocorre mais degradação, sendo a perda de massa de apenas 0,1%. A 800°C temos uma massa residual de 5,8%.

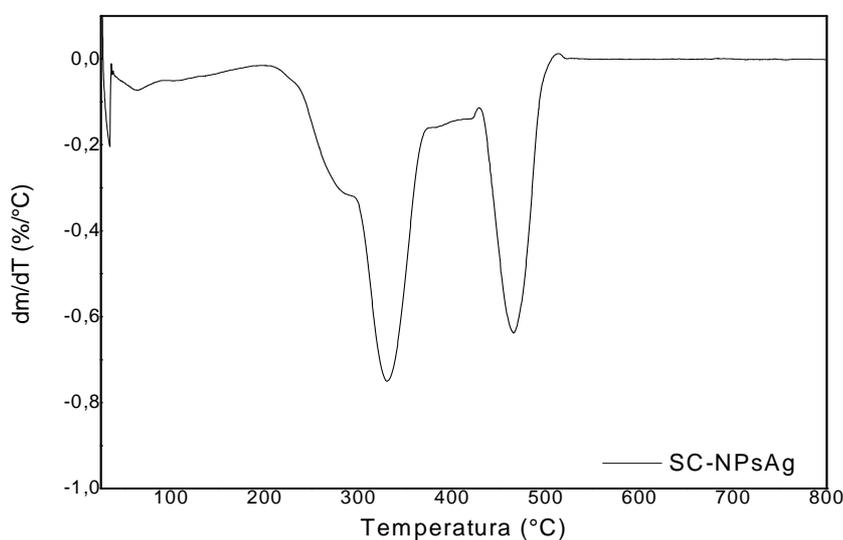


Figura 61: Curva DTG obtida para o complexo SC-NPsAg.

Curvas TGA semelhantes foram encontradas para as NPsAg sintetizadas através de extrato de folhas de *Ricinus communis*. Para tais NpsAg o início da degradação ocorre em torno de 220°C (MANI, DHANASINGH, *et al.*, 2013).

Ao compararmos as curvas TGA para o SC e para o complexo SC-NPsAg observa-se que elas são muito semelhantes, com faixas e picos de degradação muito parecidos. Observa-se, porém, que a estabilidade térmica do complexo SC-NPsAg é deslocada a menores temperaturas quando comparado ao SC puro. O SC termina sua degradação em cerca de 590 °C, enquanto o SC-NPsAg a temperatura é de 500 °C. Os resultados podem ser referentes à ligação química formada entre o oxigênio de grupos sulfato e grupos carbonila do SC e os átomos de prata, como evidenciado por FTIR (KOH, KIM, *et al.*, 2008) (CHENG, HUNG, *et al.*, 2014). Observa-se também que a massa residual do SC-NPsAg é de 5,8% e do SC puro é de 3,5%, o que sugere que o complexo SC-NPsAg apresenta 2,3 % de NPsAg (VIVEKANANDHAN, CHRISTENSEN, *et al.*, 2012)(HU e HSIEH, 2015).

### 5.2.3.2 – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL - DSC

A Figura 62 apresenta a análise térmica por DSC do fármaco Sulfato de Condroitina (SC).

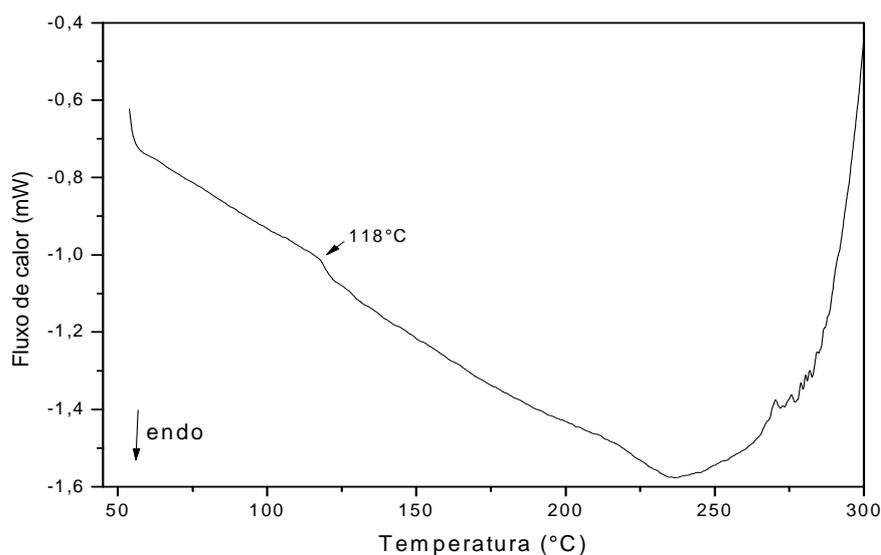


Figura 62: Curvas DSC do fármaco Sulfato de Condroitina (SC).

Um pequeno pico exotérmico a 118 °C está relacionado a perda de água adsorvida no SC (KAUR, RANA, *et al.*, 2009) (TADROS e FAHMY, 2014). O pico que aparece a partir de 236 °C no termograma de DSC do Sulfato de Condroitina caracteriza uma transição exotérmica, atribuída à degradação do polissacarídeo, em conformidade com a temperatura de degradação apresentada na análise por TGA (PIAI, 2008) (FAJARDO, SILVA, *et al.*, 2012).

A Figura 63 apresenta a curva DSC obtida para o complexo SC-NPsAg.

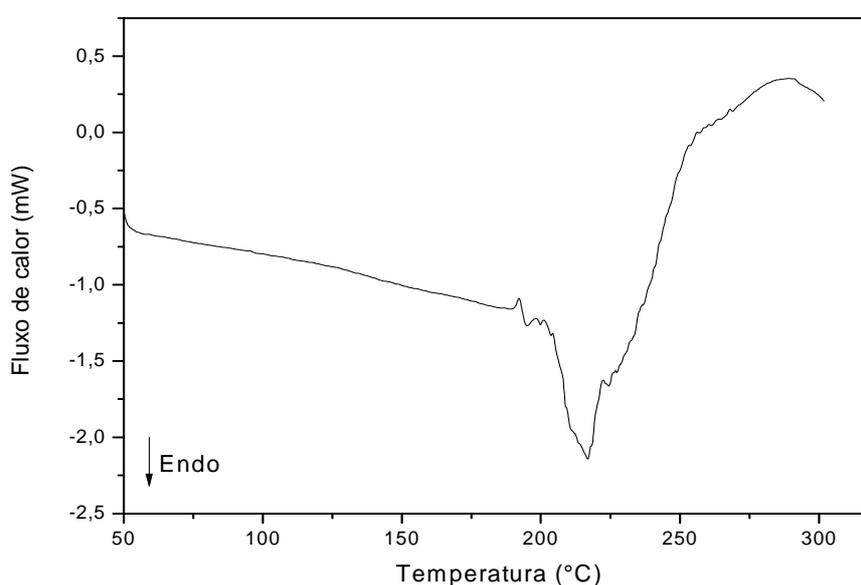


Figura 63: Curvas DSC do complexo formado SC-NPsAg.

Um largo pico endotérmico em 216 °C é atribuído a degradação do SC presente no complexo, conforme visto anteriormente por análises de TGA e DSC. A partir desta temperatura o complexo SC-NPsAg é convertido em nanopartículas de Ag, perdendo a massa de polissacarídeo (KUMAR e RANI, 2013).

## 5.2.4 - DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULAS

A Figura 64 ilustra a distribuição de tamanho de partícula por espalhamento de luz.

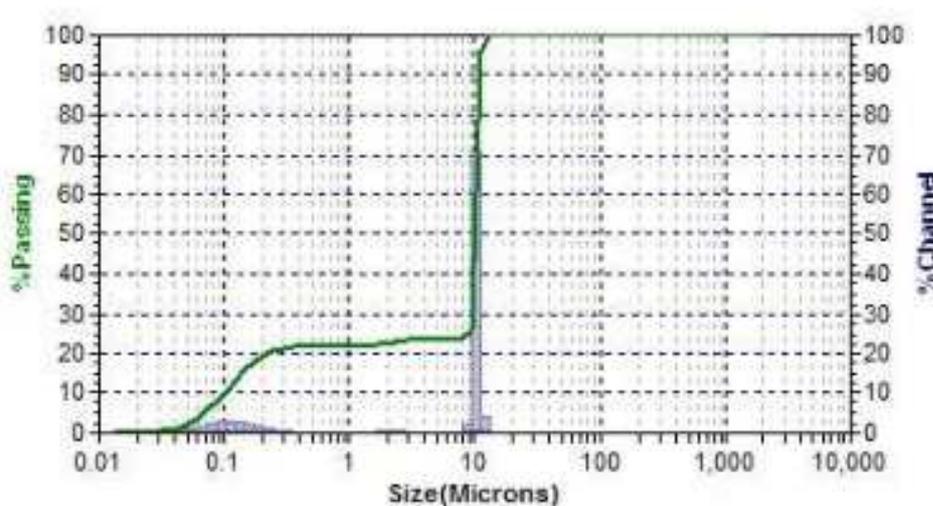


Figura 64: Distribuição do tamanho de partículas do complexo SC-NPsAg.

As curvas de distribuição de tamanho de partículas obtidas pela técnica de espalhamento de luz mostraram que o complexo SC-NPsAg apresentou partículas de prata com grande dispersão de tamanhos, desde tamanhos nanométricos, 105 nm, a tamanhos micrométricos. Os resultados obtidos indicaram que 22% das partículas estão em escala nanométrica, variando de 30 nm a 140 nm. O valor é comparável ao valor do FWHM obtido durante a síntese, que indica o grau de polidispersão do tamanho de partículas, tendo encontrado um valor de 140nm.

A alta energia de superfície e a alta concentração das nanopartículas podem ter favorecido a sua aglomeração, o que gera aglomerados de diferentes tamanhos (PONTES e THIRÉ, 2011). Essa aglomeração é uma tendência natural das nanopartículas para reduzir a alta energia livre de superfície (MACHADO, 2012).

### 5.2.5 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A Figura 65 apresenta as micrografias eletrônicas de varredura do sulfato de condroitina puro. Podemos observar que a amostra possui morfologia heterogênea.

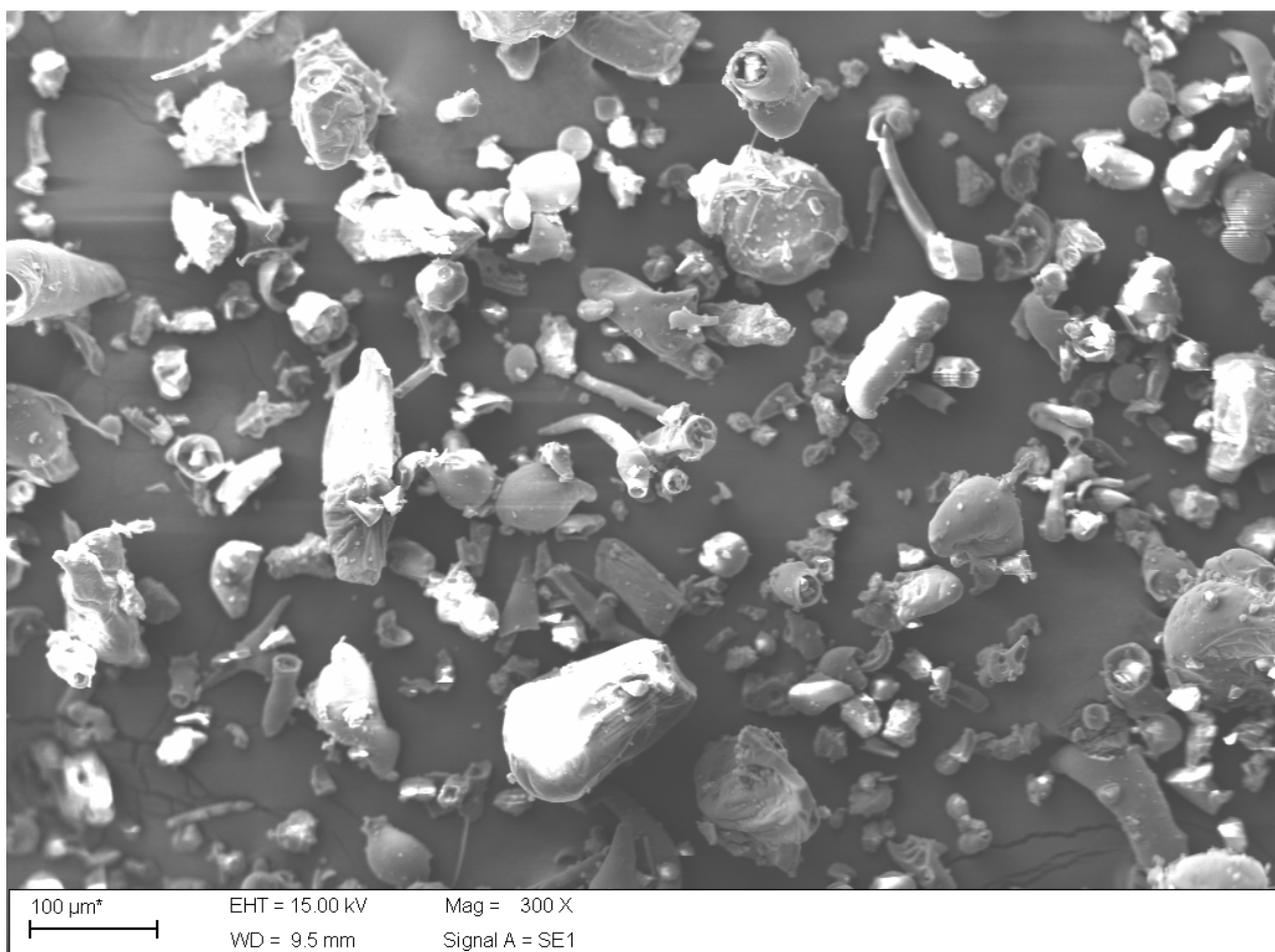


Figura 65: Micrografia MEV do Sulfato de Condroitina

As imagens do complexo SC-NPsAg foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura e são mostradas nas Figura 66. O complexo formado apresenta morfologia totalmente diferente do SC puro, visto na Figura 65. Observa-se que o complexo formado apresenta-se como flocos, em finas placas, compactas e mais homogêneas, com tamanhos irregulares.

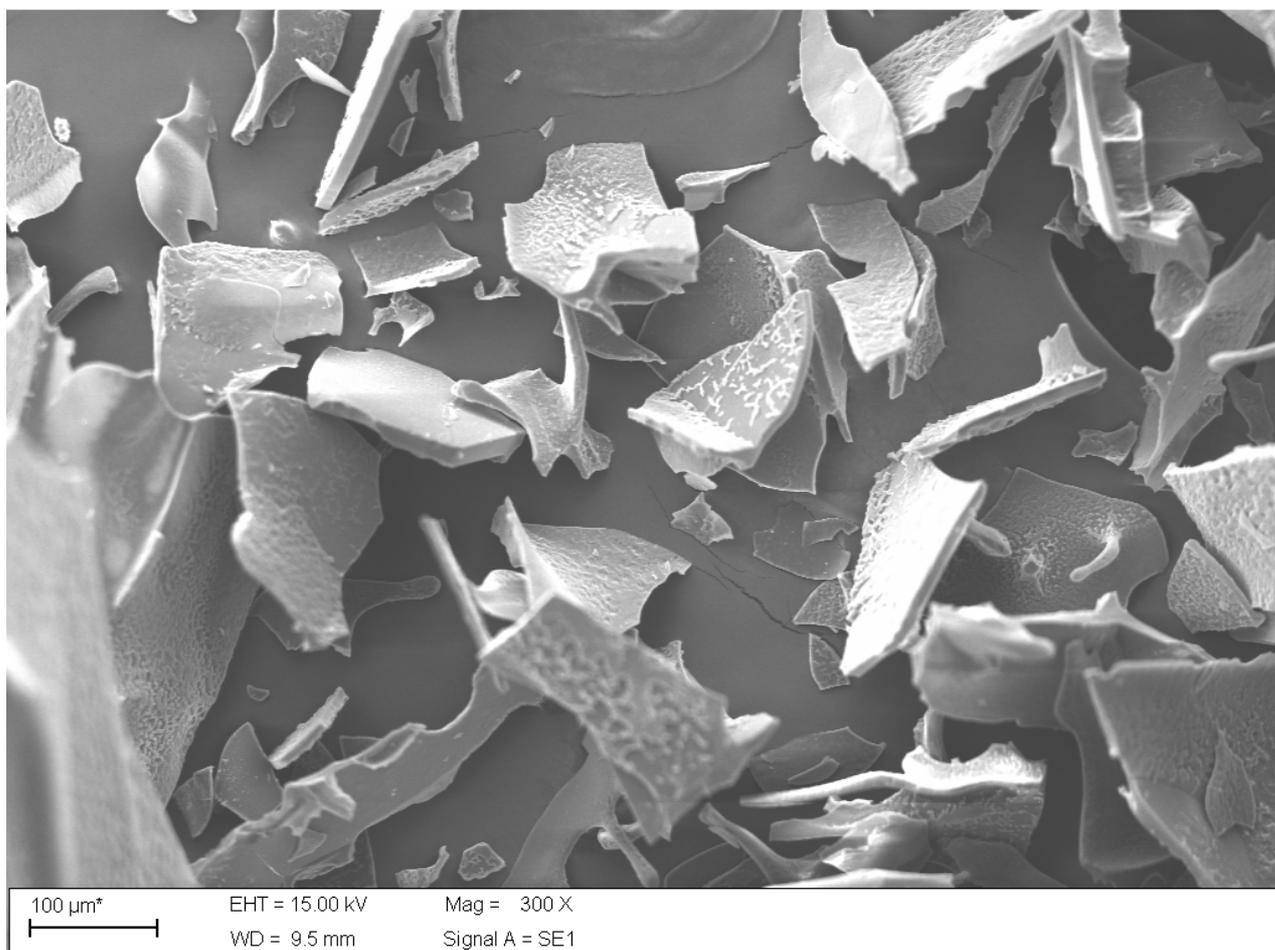


Figura 66: Micrografia MEV do complexo SC-NPsAg

A Figura 67 apresenta a micrografia para o SC-NPsAg, agora com ampliação de 3000X. É possível observar que a superfície das placas possui aparência escamosa, com ondulações irregulares por toda a superfície, de coloração mais clara.

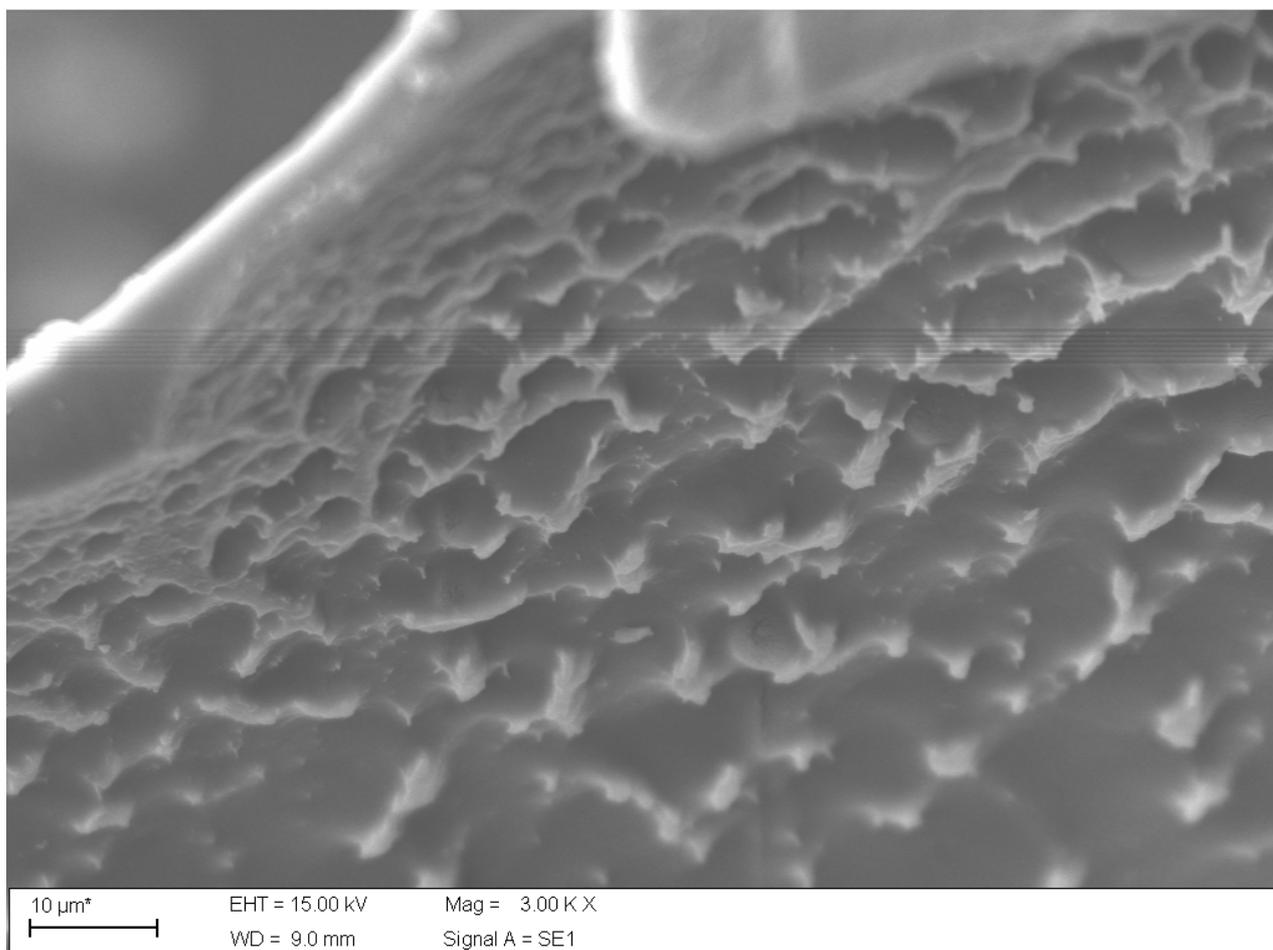


Figura 67: Micrografia MEV do complexo SC-NPsAg, com ampliação de 3000X.

Para confirmar a presença de nanopartículas de prata na matriz polimérica foi realizada Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X - EDX ou *EDS - Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy*) associada à microscopia eletrônica. Na análise de EDS é usado um material semiconductor para detectar os raios-X e um analisador multicanal, que converte a energia de raios-X em uma contagem eletrônica, resultando em um espectro que representa a análise química da amostra.

A Figura 68 mostra a micrografia MEV e correspondente análise por EDX, referente ao complexo SC-NPsAg. Podemos observar a presença de prata ao longo de toda estrutura da amostra, representada por pontos verdes. Essas partículas não foram observadas por MEV, sugerindo que as partículas estão em escala muito pequena (nanométrica). Os espectros mostraram sinais de

carbono (C), oxigênio (O), nitrogênio (N) e enxofre (S), provenientes do SC, além da Ag que está presente no complexo.

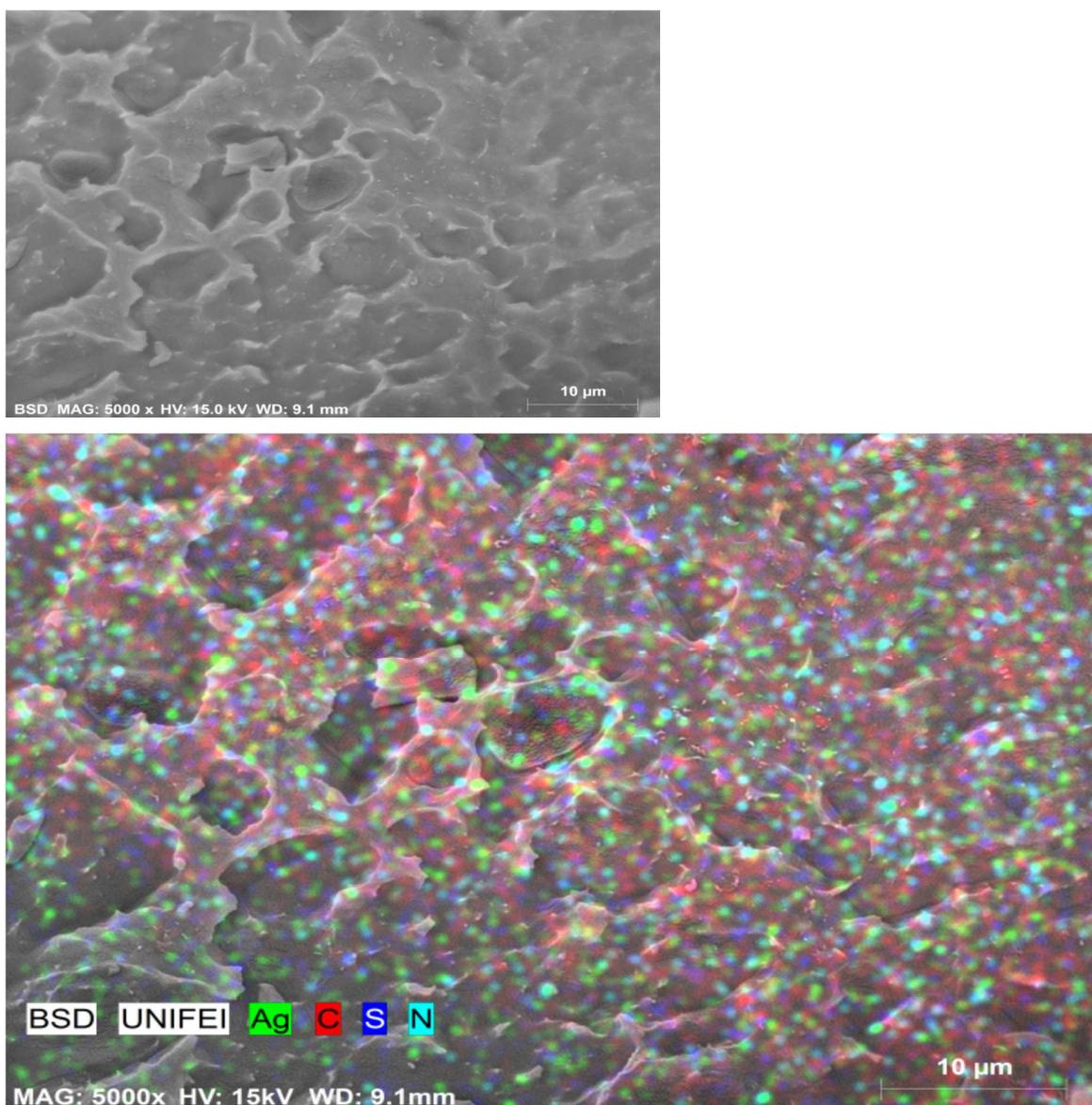


Figura 68: Mapeamento MEV-EDS de Ag depositada na superfície do complexo SC-NPsAg.

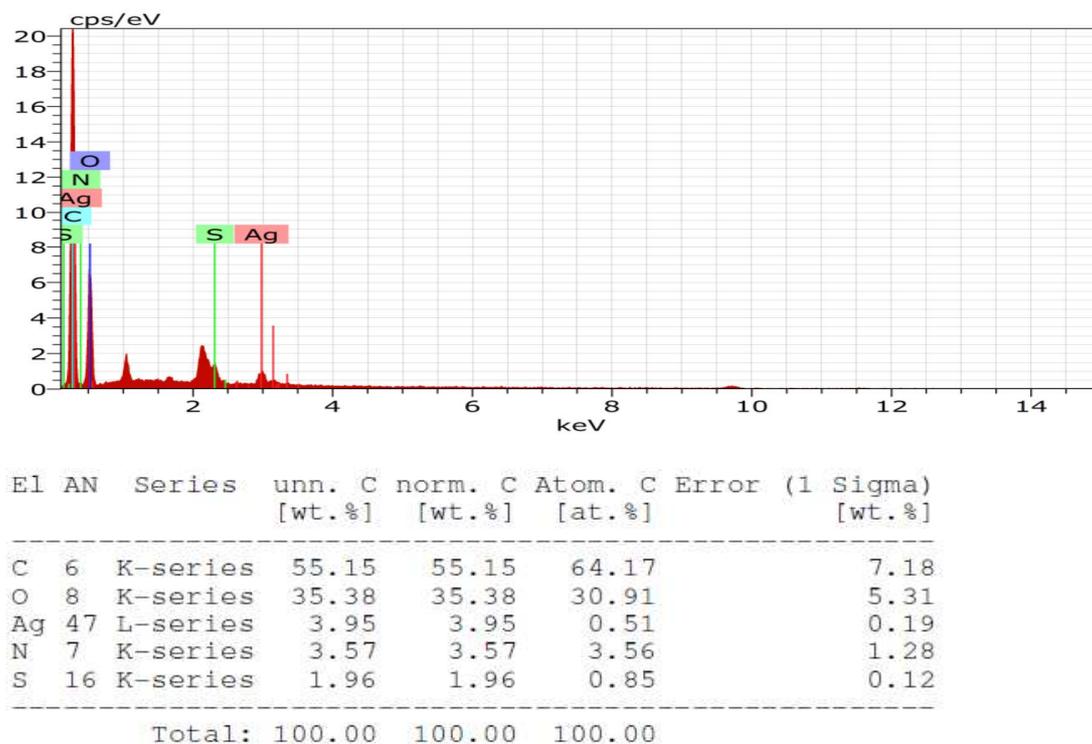


Figura 69: Espectro de EDS do complexo SC-NPsAg

A análise por EDS, Figura 69, mostra um pico absorção óptica em aproximadamente 3 keV o qual é típico de absorção de nanocristais de prata metálica, podendo assim concluir que os íons prata são reduzidos à prata elementar, confirmando também a eficácia do método de redução utilizado (HIREMATH, RATHOD, *et al.*, 2014), (SANA, BADINENI, *et al.*, 2015), (SINGH e RAWAT, 2016).

## 5.3 – FORMULAÇÕES PNIPAM VC-SC-NPsAg.

### 5.3.1 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER – FTIR.

Uma solução aquosa do complexo SC-NPsAg foi preparada e utilizada para intumescimento dos hidrogéis de Pnipam. Após 48h, as amostras foram liofilizadas, formando-se assim a formulação Pnipam – SC-NPsAg. A Figura 70 apresenta o espectro FTIR da formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg, confirmando a inserção do complexo SC-NPsAg na matriz polimérica, uma vez que são observadas regiões de absorção características do complexo SC-NPsAg e da Pnipam VC1.

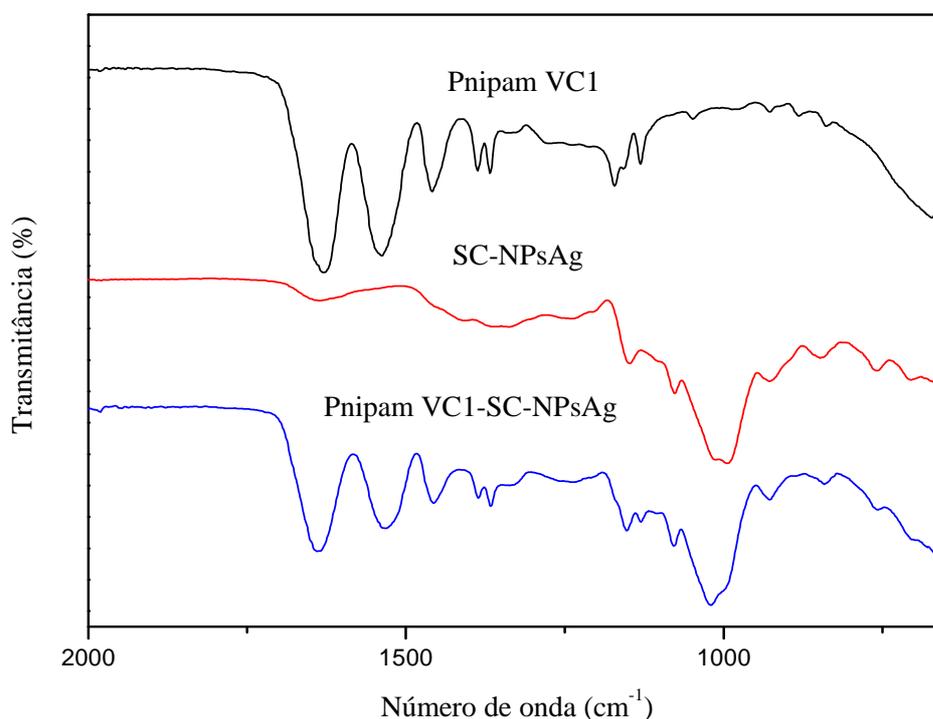


Figura 70: Espectro FTIR-ATR comparativo entre a Pnipam VC, o complexo SC-NPsAg e a formulação final Pnipam VC-SC-NPsAg.

Observa-se que as principais bandas características da Pnipam são mantidas, porém sofrem pequenos deslocamentos quando o complexo SC-NPsAg é inserido. O pico em  $1628\text{ cm}^{-1}$  relacionado a deformação axial da vibração Amida II (N-H) é deslocado para  $1638\text{ cm}^{-1}$ ; o pico em  $1538\text{ cm}^{-1}$ , que representa a deformação axial angular característico do grupo Amida I (N-H) e o pico em  $1459\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento do carbono  $\text{sp}^2$  ( $\text{CH}_2$ ) são deslocados para  $1532$  e  $1455\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. A presença do complexo SC-NPsAg é fortemente evidenciada pela região de absorção entre  $650$  e  $1100\text{ cm}^{-1}$ . Novas bandas em  $847\text{ cm}^{-1}$  correspondente à ligação C-O-S e o forte pico em cerca de  $1003\text{ cm}^{-1}$ , atribuída aos açúcares presentes no Sulfato de Condroitina (SC) ficam mais evidentes na formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg.

A Figura 71 apresenta o espectro dos demais hidrogéis sintetizados via voltametria cíclica, em que podemos observar que as bandas de absorção são iguais as visualizadas na Figura 70, demonstrando assim a mesma estrutura química.

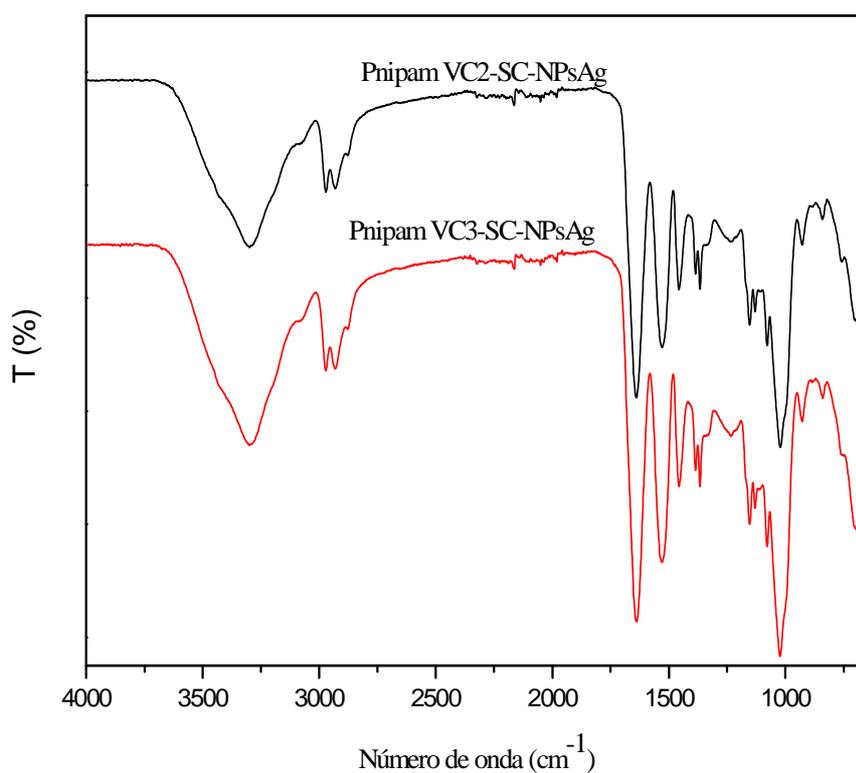


Figura 71: Espectro FTIR-ATR das formulações Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg.

## 5.3.2 - ANÁLISE TÉRMICA

### 5.3.2.1 - ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

A estabilidade térmica das formulações Pnipam VC1-SC-NPsAg, Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg foram estudadas por análises das curvas termogravimétricas, apresentadas na Figura 72.

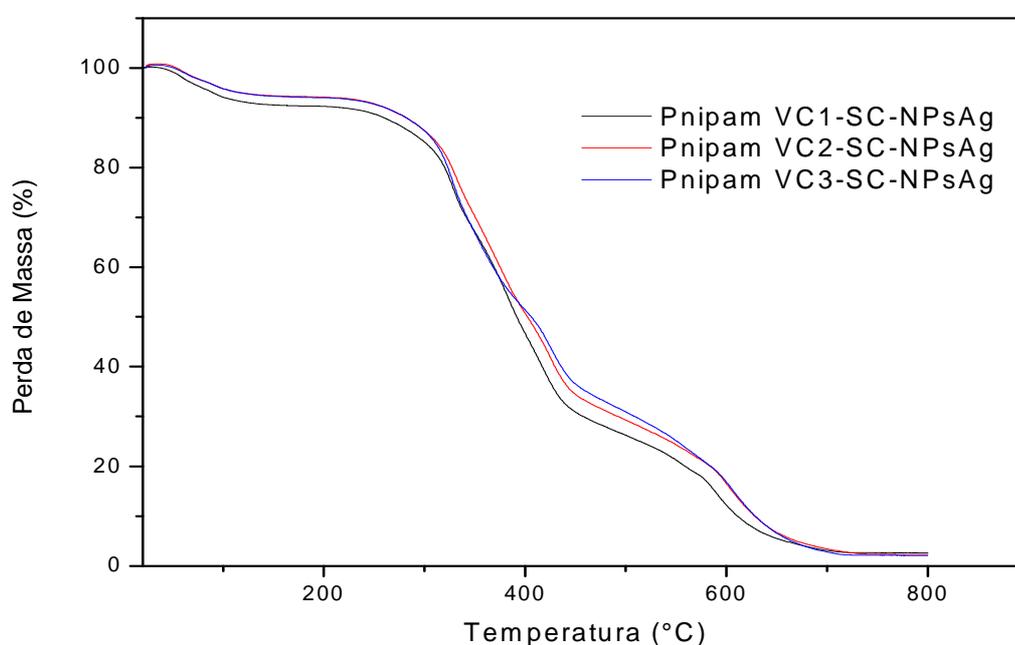


Figura 72: Curvas termogravimétricas TG das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg.

Os dados termogravimétricos obtidos a partir das curvas TG para as formulações finais Pnipam VC1-SC-NPsAg, Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg, estão apresentados na Tabela 23.  $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$  correspondem as faixas de temperatura, em °C e  $P_1$ ,  $P_2$  e  $P_3$  indicam as perdas percentuais de massa dos estágios 1, 2 e 3, respectivamente.

Tabela 23: Dados termogravimétricos das formulações finais Pnipam VC-SC-NPsAg.

Amostra	Estágio 1		Estágio 2		Estágio 3		Massa residual (%)
	T <sub>1</sub>	P <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	P <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	P <sub>3</sub>	
<b>Pnipam VC1-SC-NPsAg</b>		6,9		88,8		0,5	2,6
<b>Pnipam VC2-SC-NPsAg</b>	20-120	5,1	220-700	90,6	700-800	0,8	2,3
<b>Pnipam VC3-SC-NPsAg</b>		5,1		90,9		0,7	2,1

Podemos identificar três principais etapas de perda de massa para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg. O primeiro estágio de perda de massa, entre 20 °C e 120 °C, está relacionado a perda da água fisicamente adsorvida à formulação. Neste estágio ocorre perda de 6,9, 5,1 e 5,1% da massa inicial para as formulações Pnipam VC1-SC-NPsAg, Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg, respectivamente. Ocorre uma estabilidade até cerca de 220 °C, com perda de massa de apenas 1,2% para todas as formulações, quando então se inicia o processo principal de decomposição térmica das formulações.

A segunda etapa, correspondendo a maior perda de massa, cerca de 88,8% da massa inicial, compreende o intervalo de temperatura de 220 °C a 700 °C, com diferentes picos de perda de massa evidenciados nas curvas DTG, Figura 73, sugerindo diferentes picos de degradação, conforme pode ser visto na Tabela 24. Observa-se a perda de massa em faixas de temperatura correspondentes a temperatura de decomposição dos componentes das formulações obtidas.

Entre 700 e 800 °C quase não ocorre perda de massa, sendo que a 800 °C temos uma massa residual de 2,6, 2,3 e 2,1% para a Pnipam VC1-SC-NPsAg, Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg, respectivamente.

Tabela 24: Temperatura de degradação das formulações finais.

	Td <sub>1</sub>	Td <sub>2</sub>	Td <sub>3</sub>	Td <sub>4</sub>
<b>Pnipam VC1-SC-NPsAg</b>	329	382	417	590
<b>Pnipam VC2-SC-NPsAg</b>	331	370	425	600
<b>Pnipam VC3-SC-NPsAg</b>	329	360	426	606

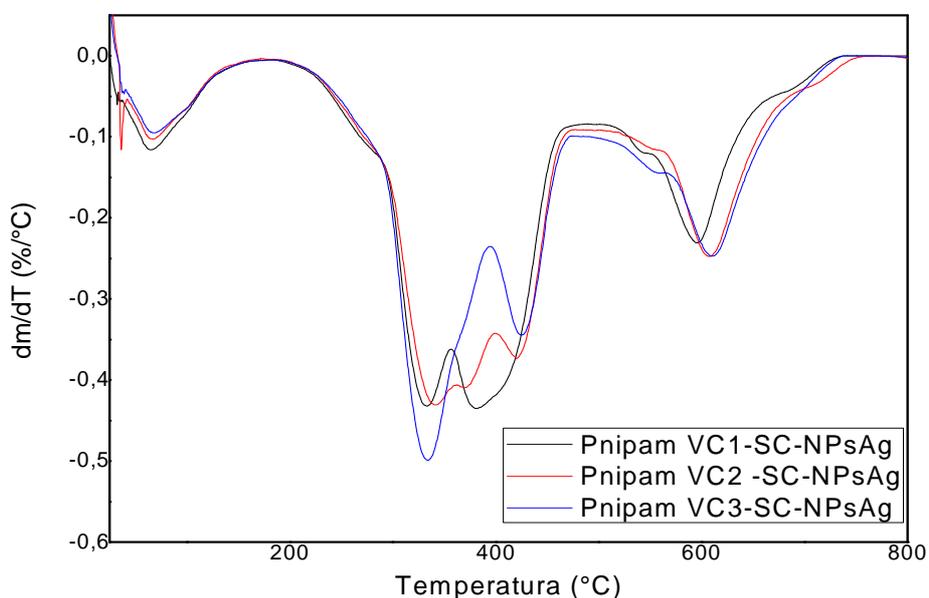


Figura 73: Curvas DTG obtidas para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg.

Quando comparamos as curvas termogravimétricas das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg com aquelas da matriz polimérica Pnipam VC observa-se que a instabilidade da matriz polimérica aumenta com a incorporação do complexo SC-NPsAg. A degradação da cadeia polimérica inicia-se a temperaturas mais baixas, 417 °C, 425 °C e 426 °C para as formulações Pnipam VC1-SC-NPsAg, Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg, respectivamente, em comparação com o hidrogel, de 432 °C, 428 °C e 428 °C para a Pnipam VC1, Pnipam VC2 e Pnipam VC3, respectivamente.

A presença do complexo SC-NPsAg acelera a degradação da matriz polimérica da Pnipam, que na ausência do complexo forma compostos estáveis que permanecem como resíduo a 800 °C. A Figura 69 mostra que a cadeia do polímero é degradada quase em sua totalidade, obtendo-se percentual de resíduo baixo, de 2 % a uma temperatura de 800 °C.

### 5.3.2.2 – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL - DSC

A Figura 74 apresenta a curva DSC das formulações Pnipam VC1-SC-NPsAg, Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg.

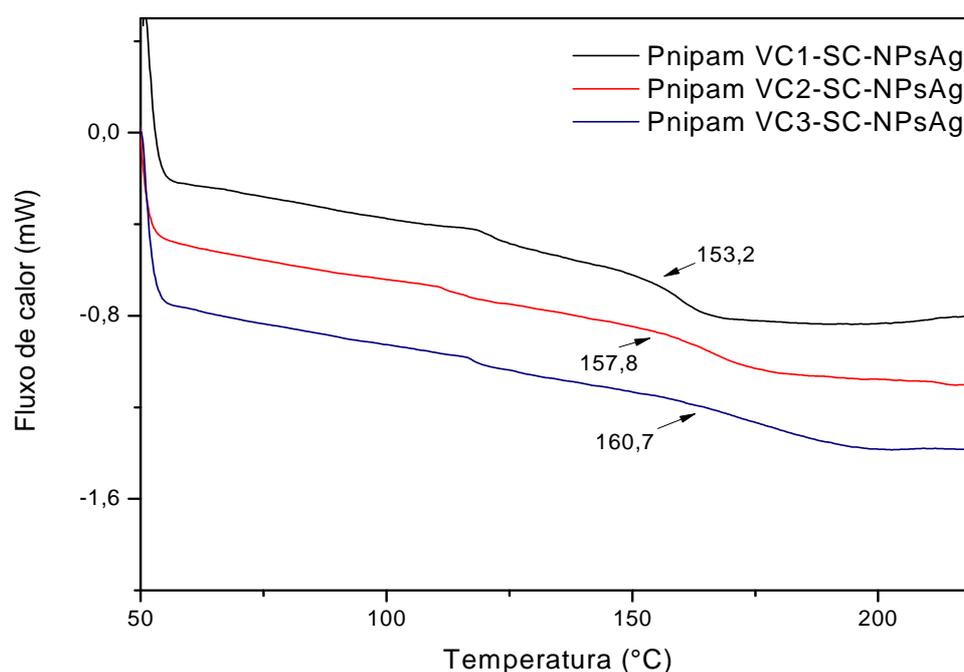


Figura 74: Curvas DSC das formulações finais Pnipam VC-SC-NPsAg.

Observa-se pelas curvas DSC que a Pnipam VC1-SC-NPsAg apresenta Tg em 153,2 °C, enquanto na Pnipam VC2-SC-NPsAg a Tg aparece em 157,8 °C e na Pnipam VC3-SC-NPsAg a transição vítrea é evidenciada em 160,7 °C. A incorporação do complexo SC-NPsAg à matriz polimérica torna as formulações obtidas mais rígidas, com menor mobilidade e assim a transição vítrea é atingida em valores maiores de temperatura quando comparadas à matriz Pnipam VC pura. O fato do complexo SC-NPsAg afetar o valor da Tg demonstra que existe uma boa dispersão do complexo SC-NPsAg na matriz polimérica Pnipam VC.

### 5.3.3 - ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO

O estudo do perfil de intumescimento ajuda a prever o comportamento dos materiais quando em contato com fluidos biológicos. A hidrofília do polímero, a estrutura da rede, grupos ionizáveis, a presença de fármacos ou outros componentes presentes na estrutura polimérica determinam a quantidade de água absorvida pelo polímero (RECIFE, 2013). As análises de intumescimento para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg foram realizadas em água, nas temperaturas de 23 e 37 °C.

#### 5.3.3.1 - ESTUDO DE INTUMESCIMENTO A 23°C

A Figura 75 apresenta o grau de intumescimento no equilíbrio em função do tempo para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg em água destilada.

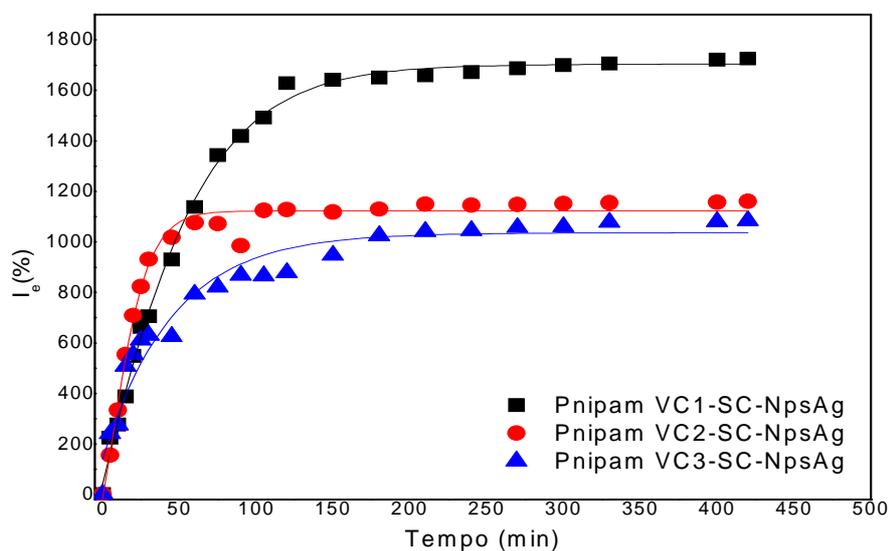


Figura 75: Intumescimento em função do tempo para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23°C.

Observa-se que a curva de intumescimento apresenta caráter bimodal, com rápido intumescimento inicial e posteriormente, o hidrogel intumesce de forma mais lenta até atingir o

equilíbrio. O grau de intumescimento no equilíbrio para a amostra Pnipam VC1-SC-NPsAg foi de 1725%, sendo de 1160% e 1083% para a Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg, respectivamente. Verifica-se que o grau de intumescimento diminui conforme o aumento da quantidade de reticulante da matriz polimérica. Porém, temos que os valores de intumescimento encontrado para as formulações aqui apresentadas são bem menores que da rede polimérica de Pnipam VC pura, conforme visto anteriormente.

Além disso, nota-se que o equilíbrio é atingido mais rapidamente para a Pnipam VC2-SC-NPsAg, em cerca de 70 minutos, seguido da Pnipam VC3-SC-NPsAg em cerca de 125 minutos e posteriormente a Pnipam VC3-SC-NPsAg em cerca de 150 minutos.

Durante o intumescimento das formulações o complexo SC-NPsAg presente nas amostras foram sendo liberado, o que resulta em menor massa e consequentemente diminui o valor de intumescimento. Além disso, a água destilada da solução de intumescimento, com a liberação do complexo, torna-se, na verdade, uma solução aquosa do complexo SC-NPsAg, o que também interfere no intumescimento.

O teor de água total no equilíbrio é uma propriedade importante dos hidrogéis, uma vez que a água em sua estrutura lhe confere novas propriedades, tornando-os materiais com potencial para aplicações em áreas biomédicas (GIBAS e JANIK, 2010). O EWC, Equação 2, foi calculado para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg a 23 °C através dos valores de intumescimento encontrados. Os valores obtidos para as formulações são apresentados na Tabela 25.

Tabela 25: Teor de água total presente nas formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23°C.

	<b>Teor de água total % (EWC)</b>
<b>Pnipam VC1-SC-NPsAg</b>	0,945
<b>Pnipam VC2-SC-NPsAg</b>	0,921
<b>Pnipam VC3-SC-NPsAg</b>	0,916

Os valores de EWC encontrados são maiores que 0,6, valor maior que o encontrado na maioria dos tecidos humanos, o que sugere que estes hidrogéis podem ser usados em aplicações biomédicas (TASDELEN, KAYAMAN-APOHAN, *et al.*, 2005), (CUGGINO, STRUMIA e IGARZABAL, 2010) (DRAGAN, 2014). Pode ser observado que concentrações maiores de agente reticulante podem aumentar a compactação, diminuindo a quantidade de espaços existentes na

matriz que podem ser ocupados pela água e diminuir assim quantidade total de água no hidrogel (MOURA, 2005).

### 5.3.3.1.1 - LEI DE FICK

Aplicando-se a lei de Fick, Equação 6, podemos determinar os valores da constante difusional  $n$  e da constante  $k$ , valores apresentados na Tabela 26.

Tabela 26: Valores de  $n$ ,  $k$  e  $R^2$  obtidos pela regressão linear do modelo de Fick para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23 °C.

	<b>n</b>	<b>k (10<sup>2</sup>) (min<sup>-1</sup>)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Pnipam VC1-SC-NPsAg</b>	0,66 ± 0,01	12,90 ± 0,08	0,9995
<b>Pnipam VC2-SC-NPsAg</b>	0,77 ± 0,01	6,52 ± 0,11	0,9996
<b>Pnipam VC3-SC-NPsAg</b>	0,45 ± 0,01	4,75 ± 0,07	0,9999

Observa-se que a Pnipam VC1-SC-NPsAg e a Pnipam VC2-SC-NPsAg apresentaram valores de  $n$  entre 0,45 e 1, o que denota difusão anômala. Para a Pnipam VC3-SC-NPsAg temos que  $n=0,45$ , sendo o processo de difusão considerado, portanto, Fickiano.

Com relação a constante  $k$ , ela denota a rapidez do processo de intumescimento até que o equilíbrio seja atingido. Verifica-se que o valor de  $k$  é de  $12,9 \cdot 10^{-2}$  para a Pnipam VC1-SC-NPsAg e diminui para as demais amostras.

### 5.3.3.1.2 - CINÉTICA DE 1ª E 2ª ORDEM

Os dados obtidos no estudo de intumescimento foram avaliados utilizando-se de modelos de primeira e segunda ordem, de acordo com as Equações 8 e 10.

Assumindo que o processo de intumescimento seja uma cinética de primeira ordem, obtemos a constante de intumescimento  $K_s$ , a partir da Equação 8, em 23°C. A Tabela 27 apresenta os valores de  $K_s$  para cada formulação, assim como o coeficiente de regressão linear  $R^2$ .

Tabela 27: Parâmetros da cinética de 1ª ordem obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23 °C.

	$k_s (10^2) (\text{min}^{-1})$	$R^2$
<b>Pnipam VC1-SC-NPsAg</b>	$2,36 \pm 0,09$	0,9985
<b>Pnipam VC2-SC-NPsAg</b>	$8,29 \pm 0,03$	0,9989
<b>Pnipam VC3-SC-NPsAg</b>	$2,88 \pm 0,01$	0,9987

Considerando agora que o intumescimento segue uma cinética de segunda ordem, Equação 10, obtemos os parâmetros apresentados na Tabela 28.

Tabela 28: Parâmetros da cinética de 2ª ordem obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23 °C

	$1/K_{00} (10^2)$	$K (10^5)$	$1/I_e (10^4)$	$R^2$
<b>Pnipam VC1</b>	$1,58 \pm 0,09$	1,82	$5,37 \pm 0,03$	0,9957
<b>Pnipam VC2</b>	$0,24 \pm 0,03$	32,16	$8,82 \pm 0,02$	0,9997
<b>Pnipam VC3</b>	$1,67 \pm 0,08$	4,98	$9,13 \pm 0,03$	0,9988

Comparando os ajustes de regressão linear dos modelos de primeira e segunda ordem, verifica-se que o intumescimento a 23 °C ajusta-se mais adequadamente ao Modelo de Ho ou cinética de segunda ordem. Nesse modelo o processo é controlado pela relaxação que ocorre no sistema durante o processo de absorção de solvente. Neste caso, a velocidade de intumescimento diminui de maneira proporcional à capacidade de intumescimento (SCHOTT, 1991) (CREMONEZ, BENTLEY e LARA, 2013).

### 5.3.3.2 - INTUMESCIMENTO A 37°C

Os perfis de intumescimento das amostras de Pnipam VC-SC-NPsAg representados na Figura 76 apresentam os diferentes comportamentos das amostras em solução aquosa, a 37°C. Ao contrário do esperado, a amostra Pnipam VC1-SC-NPsAg apresenta menor valor de intumescimento a 37 °C, alcançando valores de 161 % de intumescimento. A amostra Pnipam VC2-SC-NPsAg alcança valores percentuais de 582 % de intumescimento enquanto a Pnipam VC3-SC-NPsAg atinge 333 %. Comparativamente ao mesmo estudo de intumescimento realizado a 23°C, observa-se que os percentuais de intumescimento no equilíbrio a 37°C são bem menores. Para a Pnipam VC1-SC-NPsAg a 23 °C o intumescimento atinge 1725% contra percentuais de 161% a 37°C. Para a Pnipam VC2-SC-NPsAg e para a Pnipam VC3-SC-NPsAg, o intumescimento no equilíbrio foi de 1160 % e 1083 % a 23 °C e de 582 % e 333 % a 37 °C, respectivamente.

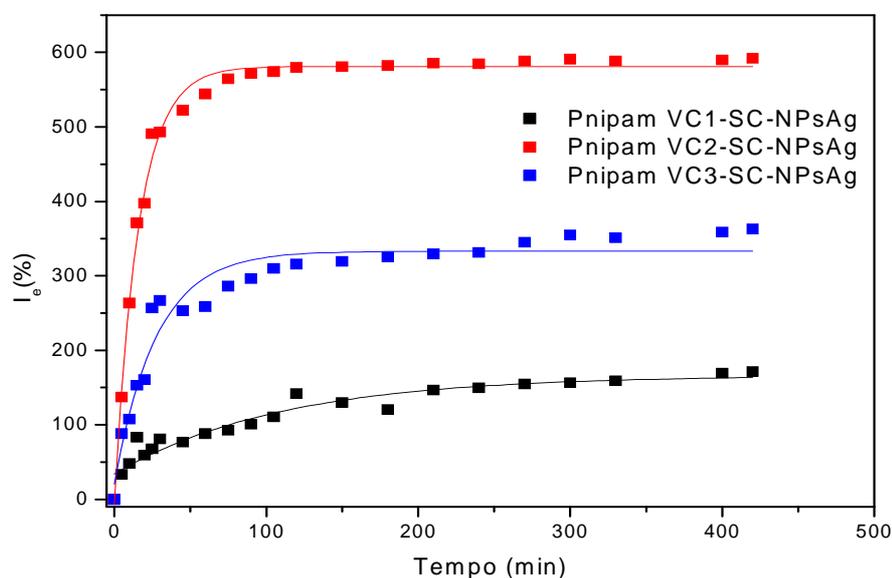


Figura 76: Intumescimento em função do tempo para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C.

Ainda, se compararmos os percentuais de intumescimento em água encontrados a 37 °C apenas para a matriz polimérica Pnipam VC, observa-se que os valores são muito menores. Para a Pnipam VC1 encontramos um valor de intumescimento de 1243% enquanto que para a mesma matriz polimérica, agora com a inclusão do complexo SC-NPsAg ocorre redução do percentual de intumescimento para 161 %. Essa mesma redução ocorre de 1481 % para 582 % para a formulação Pnipam VC2-SC-NPsAg e de 1275 % para 333 % para a Pnipam VC3-SC-NPsAg.

Os resultados mostram que a presença do complexo SC-NPsAg reduz consideravelmente os valores percentuais de intumescimento. Podemos relacionar essa redução do percentual de intumescimento aos seguintes fatores, que podem atuar isolada ou simultaneamente. Um deles é a diminuição originária da complexação da Ag com grupos carboxila da cadeia principal da Pnipam, que ocasiona contração da rede (BAL, CEPNI, *et al.*, 2015). Agnihotri e colaboradores sugerem que ocorre forte ligação entre as NPsAg e os átomos de O e N presentes na cadeia polimérica, os quais restringem a capacidade de penetração de água no hidrogel e assim, ocorre a diminuição do intumescimento (AGNIHOTRI, MUKHERJI e MUKHERJI, 2012). A redução da capacidade de absorção pode ser atribuída a diminuição da quantidade de poros devido a incorporação das

nanopartículas de prata, que possuem tamanho dentro da faixa de 30 a 140 nm, conforme visto anteriormente (FOUDA, EL-AASSAR, *et al.*, 2015).

### 5.3.3.2.1 - LEI DE FICK

Na Tabela 29 são apresentados os valores dos parâmetros cinéticos  $k$  e  $n$ , avaliados conforme Equação 6.

Tabela 29: Valores de  $n$ ,  $k$  e  $R^2$  obtidos pela regressão linear do modelo de Fick para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C.

	$n$	$k$ ( $10^2$ ) ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$
<b>Pnipam VC1-SC-NPsAg</b>	$0,20 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,01$	0,9992
<b>Pnipam VC2-SC-NPsAg</b>	$0,53 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,01$	0,9993
<b>Pnipam VC3-SC-NPsAg</b>	$0,35 \pm 0,01$	$0,23 \pm 0,01$	0,9946

Observa-se que os valores de  $n$  para as formulações Pnipam VC1-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg são menores que 0,45, indicando difusão menos Fickiana. Para a amostra Pnipam VC2-SC-NPsAg o valor de  $n=0,53$  indica que o mecanismo de absorção pelo hidrogel é do tipo anômalo, com contribuições de difusão Fickiana e do relaxamento das cadeias poliméricas.

### 5.3.3.2.2 - CINÉTICA DE 1ª E 2ª ORDEM.

Os dados obtidos no estudo de intumescimento foram avaliados utilizando-se de modelos de primeira e segunda ordem, de acordo com as Equações 8 e 10.

Aplicando-se a cinética de primeira ordem aos valores de intumescimento encontrados, Equação 8, encontramos os valores da constante  $k_s$  e do coeficiente de regressão linear, apresentados na Tabela 30.

Tabela 30: Parâmetros da cinética de 1ª ordem obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C.

	$k_s$ ( $10^2$ ) ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$
<b>Pnipam VC1-SC-NPsAg</b>	$3,68 \pm 0,07$	0,9997
<b>Pnipam VC2-SC-NPsAg</b>	$6,27 \pm 0,05$	0,9999
<b>Pnipam VC3-SC-NPsAg</b>	$1,02 \pm 0,04$	0,9984

Assumindo que o intumescimento seja de segundo ordem, utilizamos a Equação 10 para determinarmos os valores das constantes  $k$  e do coeficiente de regressão linear  $R^2$ , valores que são apresentados na Tabela 31.

Tabela 31: Parâmetros da cinética de 2ª ordem obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C

	$1/K_{00} (10^2)$	$k (10^4)$	$1/I_e (10^4)$	$R^2$
<b>Pnipam VC1</b>	$32,75 \pm 0,42$	1,01	$5,28 \pm 0,02$	0,9990
<b>Pnipam VC2</b>	$0,52 \pm 0,06$	5,63	$1,71 \pm 0,02$	0,9998
<b>Pnipam VC3</b>	$2,57 \pm 0,21$	3,32	$2,92 \pm 0,01$	0,9992

Nos dois modelos utilizados, verifica-se que a constante  $k$  é maior conforme maior valor de intumescimento no equilíbrio. A 37 °C verifica-se que o melhor ajuste dos valores de intumescimento é o modelo de primeira ordem.

#### 5.3.4 – ESTUDO DE LIBERAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Como visto anteriormente, através de espectroscopia de absorção no ultravioleta e visível (UV-Vis) é possível identificar o pico de ressonância de plasmon característico das nanopartículas de Ag em 450 nm. Assim, através do estudo de variação da intensidade da absorção neste comprimento de onda, podemos realizar o estudo cinético da liberação do complexo SC-NPsAg no meio reacional. Para isso, foi construída inicialmente, uma curva de calibração através de soluções com concentrações conhecidas do complexo, de forma a converter a resposta de absorbância em seu valor correspondente de concentração. A Figura 77 apresenta os valores de absorbância obtidos em função das concentrações, ou seja, a curva de calibração obtida para o complexo SC-NPsAg.

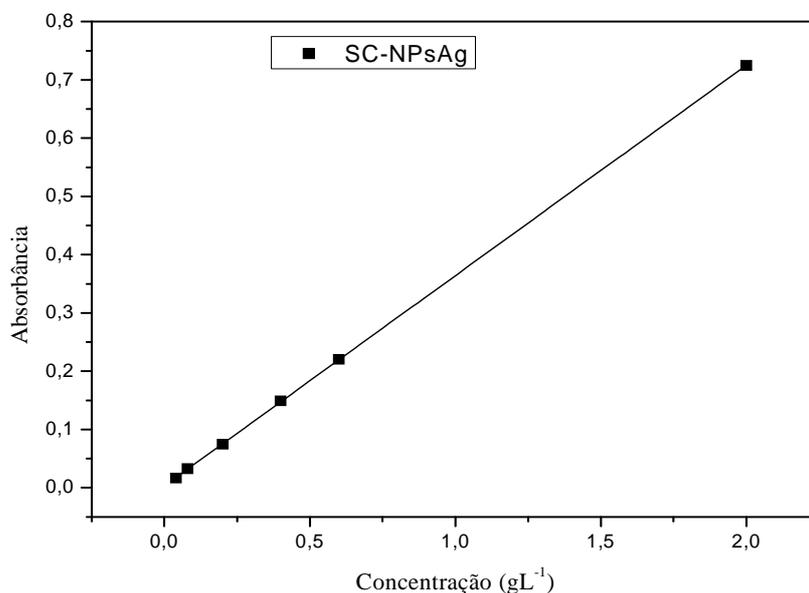


Figura 77: Curva de calibração linear (absorbância vs concentração g L<sup>-1</sup>) do complexo SC-NPsAg em água.

O tratamento matemático dos dados obtidas na Figura 77 permite obter as curvas de calibração para a liberação do complexo SC-NPsAg:

$$A_{Ag} = 0,00318 + 0,36092 * C_{Ag} \quad r^2=0,9999 \quad (32)$$

Observa-se pela Equação 32 e pela Figura 77, um excelente ajuste da regressão linear com coeficiente de correlação para a liberação de NPsAg. A partir da curva de calibração é possível obter os valores de massa liberada do complexo em função do tempo, como será visto a seguir para os estudos de liberação do complexo nas duas temperaturas diferentes, 25 e 37°C, abaixo e acima da LCST, respectivamente.

A liberação do complexo SC-NPsAg foi estudada abaixo e acima da LCST e os resultados são apresentados a seguir.

### 5.3.4.1 - LIBERAÇÃO DE NPsAg A 23 °C.

As curvas de liberação cumulativa, obtida através dos valores de absorbância em função do tempo, a uma temperatura de 25°C, são apresentadas na Figura 78. Os valores de absorbância obtidos em função do tempo são convertidos em unidades de concentração, utilizando a curva de calibração previamente obtida, de acordo com a equação 32. A partir dos valores de concentração no tempo, e levando em consideração o volume de solução utilizado, obtemos a massa do complexo SC-NPsAg liberada. Sendo estas grandezas proporcionais, as curvas de massa liberada em função do tempo tem o mesmo perfil obtido nas curvas apresentadas na Figura 78.

A literatura descreve os modelos de liberação apresentados na Figura 74 como sendo uma liberação bimodal, no qual consiste de duas fases distintas. A primeira é caracterizada pela liberação acelerada que acontece nos primeiros momentos. A segunda fase consiste em uma liberação mais lenta, até a estabilização.

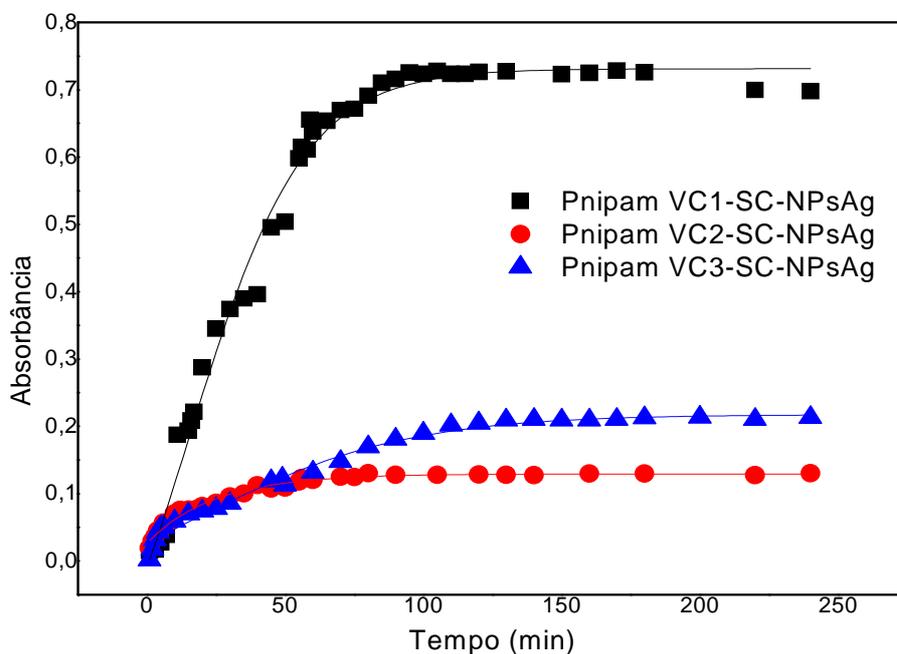


Figura 78: Perfil de liberação de NPsAg a partir das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23°C.

Observa-se que o equilíbrio de liberação é alcançado mais rapidamente para a Pnipam VC2-SC-NPsAg, em cerca de 50 minutos, enquanto para as demais amostras acontece a tempos maiores que 100 minutos. Além disso, observa-se que a Pnipam VC1-SC-NPsAg apresenta maiores valores de absorvância, ou proporcionalmente de massa liberada de NPsAg, seguido da Pnipam VC3-SC-NPsAg e depois pela amostra Pnipam VC2-SC-NPsAg. Em termos de porcentagem de massa do complexo SC-NPsAg liberada, temos que a Pnipam VC1-SC-NPsAg libera cerca de 62 % da massa inicial do complexo SC-NPsAg incorporado, enquanto a Pnipam VC2-SC-NPsAg libera 57,5% e a Pnipam VC3-SC-NPsAg libera cerca de 59,6% de SC-NPsAg

De posse dos valores da massa, pode-se estudar a cinética de liberação das NPsAg. As curvas foram ajustadas seguindo a lei de Fick, Equação 6, obtendo assim os parâmetros K e n, apresentados na Tabela 32.

Tabela 32: Valores de n, k e R<sup>2</sup> obtidos pela regressão linear do modelo de Fick para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 23 °C.

	<b>k (min<sup>-1</sup>)</b>	<b>n</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Pnipam VC1-SC-NPsAg</b>	0,018	0,974 ± 0,012	0,9992
<b>Pnipam VC2-SC-NPsAg</b>	0,168	0,442 ± 0,012	0,9966
<b>Pnipam VC3-SC-NPsAg</b>	0,046	0,639 ± 0,011	0,9943

Considerando os valores de n obtidos, temos que a Pnipam VC1-SC-NPsAg e a Pnipam VC3-SC-NPsAg possui valores de n entre 0,5 e 1, sendo, portanto, correspondentes ao processo de difusão anômala ou difusão não Fickiana, quando as taxas de difusão e relaxação são comparáveis.

A Pnipam VC2-SC-NPsAg parece seguir a lei de Fick, uma vez que o valor de n está muito próximo de 0,5 portanto, muito próxima da liberação fickiana, quando a razão de difusão é muito menor que a taxa de relaxação (CAYKARA, KIPER e DEMIREL, 2006).

Com relação ao valor do coeficiente k, este indica a velocidade de liberação do complexo SC-NPsAg. Temos que a velocidade de liberação do complexo é maior para a formulação Pnipam VC2-SC-NPsAg.

### 5.3.4.2 – LIBERAÇÃO DE NPsAg A 37 °C

Da mesma forma que a 25°C, os estudos de liberação a 37°C foram realizados através de análises das curvas de UV-Vis.

Os perfis de liberação obtidos através dos valores de absorvância em função do tempo são apresentados na Figura 79. Semelhante ao que foi realizado a 25 °C, os valores de absorvância são convertidos em unidades de concentração, g L<sup>-1</sup>, e conseqüentemente em valores de massa liberada. Assim, as curvas de absorvância e as curvas de massa liberada, ambas em função do tempo, são semelhantes.

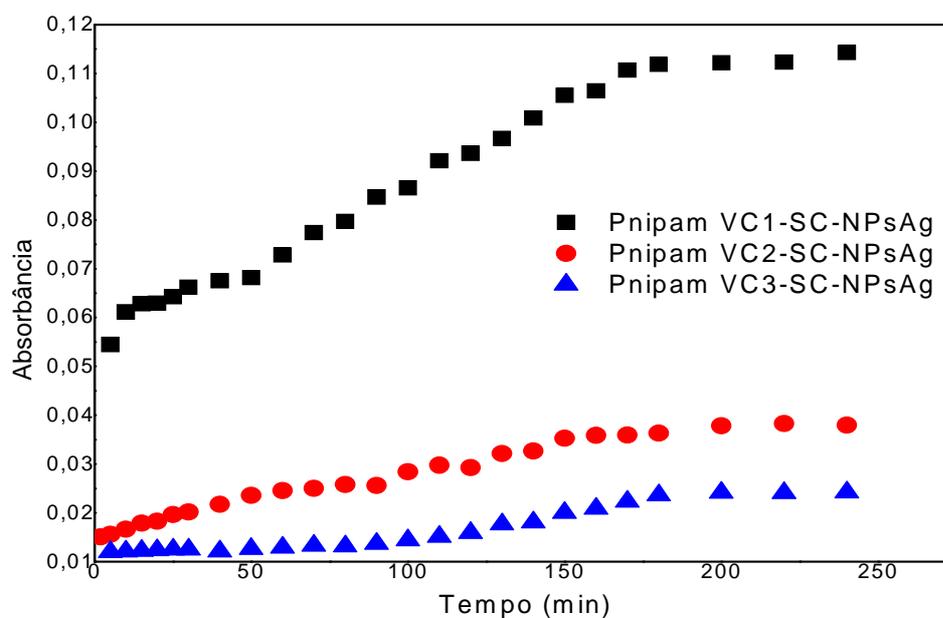


Figura 79: Perfil de liberação de NPsAg a partir das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C.

Os perfis de liberação do complexo SC-NPsAg a 25 e a 37 °C são similares. Porém, observa-se que a liberação ocorre muito mais lentamente a 37 °C que a 25 °C, e menor quantidade de complexo é liberada. O equilíbrio da liberação acontece em tempos superiores a 150 minutos para todas as amostras.

Em termos de porcentagem de massa do complexo SC-NPsAg liberada a 37 °C, temos que a Pnipam VC1-SC-NPsAg liberam cerca de 39,5% da massa inicial do complexo SC-NPsAg incorporado, enquanto a Pnipam VC2-SC-NPsAg libera 36,7% e a Pnipam VC3-SC-NPsAg libera cerca de 35,3% de SC-NPsAg. Não ocorre liberação da massa total de complexo incorporado, fato que pode estar relacionado à interação presente entre o complexo SC-NPsAg e a matriz polimérica de Pnipam, o que impede a total liberação. Observa-se que a massa de complexo liberada é muito menor a 37 °C que a 25°C. Estando a uma temperatura acima da LCST, a Pnipam tende a colapsar, de modo a reter as nanopartículas na estrutura tridimensional, impedindo a sua liberação de forma mais rápida, como ocorre a 25 °C (CHEARUIL e CORRIGAN, 2009).

Observamos que a liberação das NPsAg é fortemente influenciada pela temperatura, sendo que a 37 °C é liberado um valor médio em torno de 37 % da massa inicial do complexo SC-NPsAg. Porém, a 25 °C se libera um valor médio de 59,7 % da massa inicial. Este resultado é desejado para a aplicação esperada para a formulação desenvolvida. Espera-se que o hidrogel formado seja capaz de manter a liberação das NPsAg no local de aplicação, a 37°C. Medicamentos de liberação sustentada promovem uma liberação inicial de fármaco, suficiente para disponibilizar a dose terapêutica e a manutenção da concentração plasmática do fármaco constante durante um tempo maior que o medicamento convencional, representando uma situação ideal (liberação de ordem zero). Os sistemas de liberação controlada (sustentada, prolongada, lenta, etc.) apresentam, em relação aos medicamentos convencionais, redução das oscilações plasmáticas das concentrações do fármaco, redução na frequência da dose – o que acarreta maior conveniência e cooperação do paciente – baixa probabilidade de ocorrência de picos de concentração plasmáticas do fármaco (CARBINATTO, 2010).

De posse dos valores da massa, pode-se estudar a cinética de liberação das NPsAg. As curvas foram ajustadas seguindo a Lei de Fick, Equação 6, obtendo assim os parâmetros K e n, apresentados na Tabela 33.

Tabela 33: Valores de n, k e R<sup>2</sup> obtidos pela regressão linear do modelo de Fick para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 37°C.

	<b>k (min<sup>-1</sup>)</b>	<b>n</b>	<b>R2</b>
<b>Pnipam VC1-SC-NPsAg</b>	0,254	0,215 ± 0,007	0,9945
<b>Pnipam VC2-SC-NPsAg</b>	0,123	0,376 ± 0,004	0,9991
<b>Pnipam VC3-SC-NPsAg</b>	0,011	0,847 ± 0,022	0,9947

Os valores de  $n$  aumentam conforme o aumento da reticulação das amostras. Observa-se que a Pnipam VC1-SC-NPsAg e a Pnipam VC2-SC-NPsAg os valores de  $n$  são menores que 0,5. Alguns autores, como Wang e Paramita, definem esse comportamento como sendo menos Fickiano, quando a taxa de penetração da água é muito menor que a taxa de relaxação das cadeias poliméricas, se comparando como o processo Fickiano (WANG, WU e LIN, 2008) (PARAMITA, BANNIKOVA e KASAPIS, 2015). Outros autores, como Bajpai, preferem definir o processo como sendo Fickiano (BAJPAI, BAJPAI e SHUKLA, 2001). A Pnipam VC3-SC-NPsAg mantém o valor de  $n$  no intervalo entre 0,5 e 1, sendo de difusão anômalo, quando as taxa de relaxação e difusão são comparáveis. Analisando os valores do coeficiente  $k$ , podemos observar que os valores diminuem conforme aumento da reticulação nas amostras, sendo inversamente proporcional ao coeficiente difusional  $n$ .

### **5.3.5 - ENSAIOS REOLÓGICOS**

A avaliação das propriedades viscoelásticas das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg foi realizada através de ensaios para se obter a região viscoelástica linear dos hidrogéis, ou seja, a região em que  $G'$  e  $G''$  independem da tensão aplicada. É necessário salientar que nas Figuras 80, 81 e 82 as denominações na legenda CX1, CX2 e CX3 correspondem às formulações Pnipam VC1-SC-NPsAg, Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg, respectivamente.

A Figura 80 apresenta os valores de  $G'$  e  $G''$  em função da tensão aplicada para os hidrogéis de Pnipam VC, obtidos a 20°C. Podemos identificar uma região de viscoelasticidade linear para tensões até cerca de 10 Pa, faixa maior quando comparada aos valores obtidos para a matriz polimérica Pnipam.

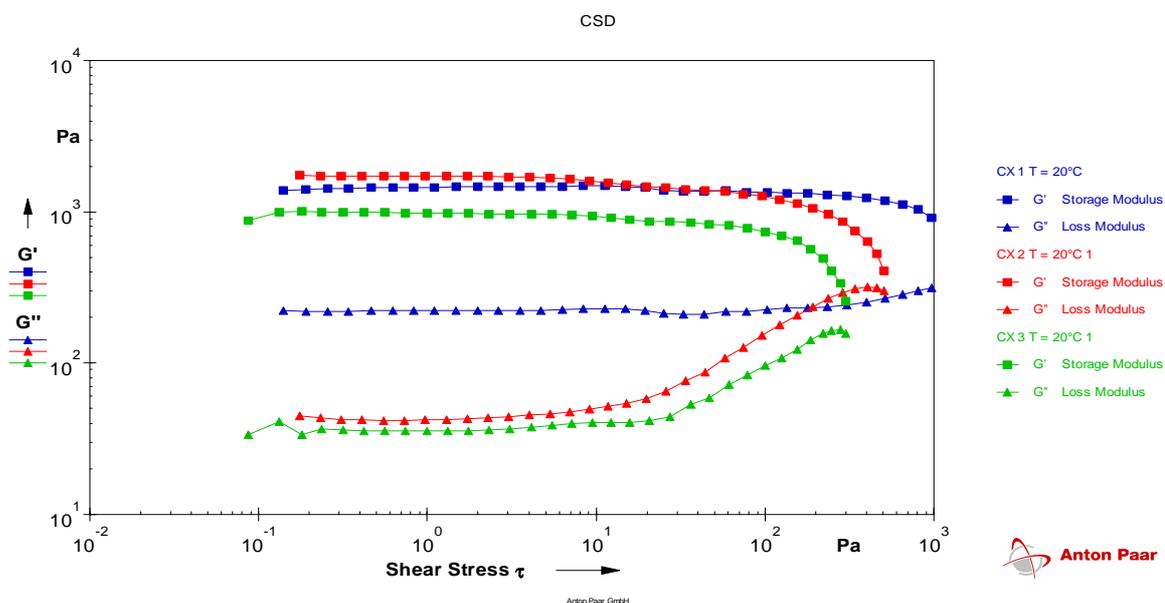


Figura 80: Variação do módulo elástico  $G'$  e do módulo de perda  $G''$  em função da tensão aplicada para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 20°C.

As amostras foram submetidas a uma rampa de aquecimento de 20 a 40 °C e as propriedades viscoelásticas avaliadas pelas medidas dos módulos de armazenamento ( $G'$ ) e perda ( $G''$ ) frente ao aquecimento. A Figura 81 apresenta a evolução de  $G'$  e  $G''$  das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg sob aquecimento.

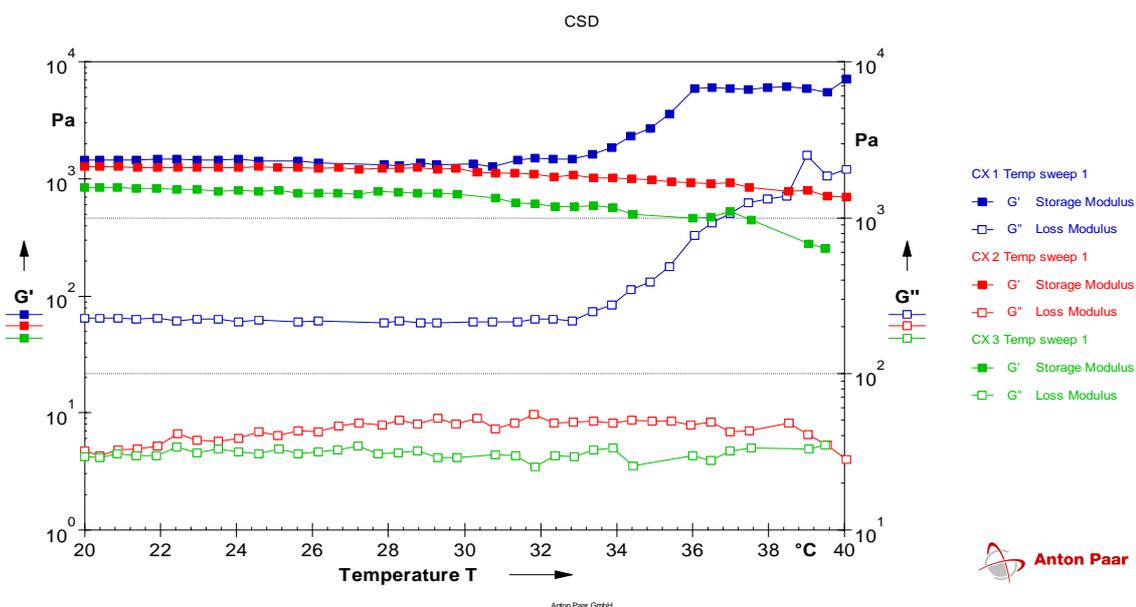


Figura 81: Variação dos módulos elástico  $G'$  e de perda  $G''$  em função da temperatura para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, utilizando deformação de 0,01% e frequência angular de 10 rad/s.

Os valores dos módulos elástico,  $G'$  e dos módulos de perda,  $G''$  para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, obtidos a 20, 37 e 40 °C são apresentados na Tabela 34.

Tabela 34: Valores dos módulos elástico  $G'$  e de perda  $G''$  obtidos para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg a 20, 37 e 40°C.

Temperatura (°C)	20		37		40	
	$G'$	$G''$	$G'$	$G''$	$G'$	$G''$
<b>Pnipam VC1</b>	1452	228	5946	1068	7141	2046
<b>Pnipam VC2</b>	1277	32	916	42	690	28
<b>Pnipam VC3</b>	842	30	526	32	471	26

Da mesma forma que visto anteriormente para a matriz polimérica Pnipam, observa-se que para todos as formulações o valor de  $G'$  é muito maior que o módulo  $G''$ , tendo portanto comportamento elástico predominante sobre o comportamento viscoso, refletindo a existência de uma rede tridimensional elástica (GARCÍA\_ASTRAIN, CHEN, *et al.*, 2015).

Para a formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg a transição de fases LCST pode ser observada claramente, a partir do máximo de inclinação dos valores de  $G'$  em função da temperatura, o que acontece em cerca de 33 °C. Para as demais amostras não foi possível observar tal fenômeno, sendo que ambos os módulos diminuem com o aumento da temperatura.

Para a Pnipam VC1-SC-NPsAg observa-se que os valores de  $G'$  e  $G''$  aumentam consideravelmente, devido ao colapso das cadeias poliméricas. Para as demais amostras, ocorre redução nos valores dos módulos, o que pode estar associado a ocorrência de sinerese, ou seja, a liberação de água que se move para a superfície e a possível desintegração das amostras durante o aquecimento leva a uma análise errônea, conforme explicado anteriormente.

De forma geral, ao compararmos os valores dos módulos elásticos  $G'$  dos hidrogéis de Pnipam e das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, temos que seu valor diminui quando da incorporação do complexo, ocorrendo redução da elasticidade do material.

Na Figura 82 a viscosidade dos hidrogéis intumescidos em água são plotados em função da temperatura. Observa-se que para a formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg a viscosidade aumenta conforme aumento da temperatura, relacionado a maiores interações hidrofóbicas, promovendo a agregação das cadeias da Pnipam, aumentando assim a viscosidade, fenômeno denominado comportamento “*thermothickening*” (BOKIAS, MYLONAS e STAIKOS, 2001) (ZHANG, DUAN, *et al.*, 2009). Para as demais amostras, possivelmente devido a quebra da amostra, essa agregação não ocorre e, portanto, não ocorre variação da viscosidade.

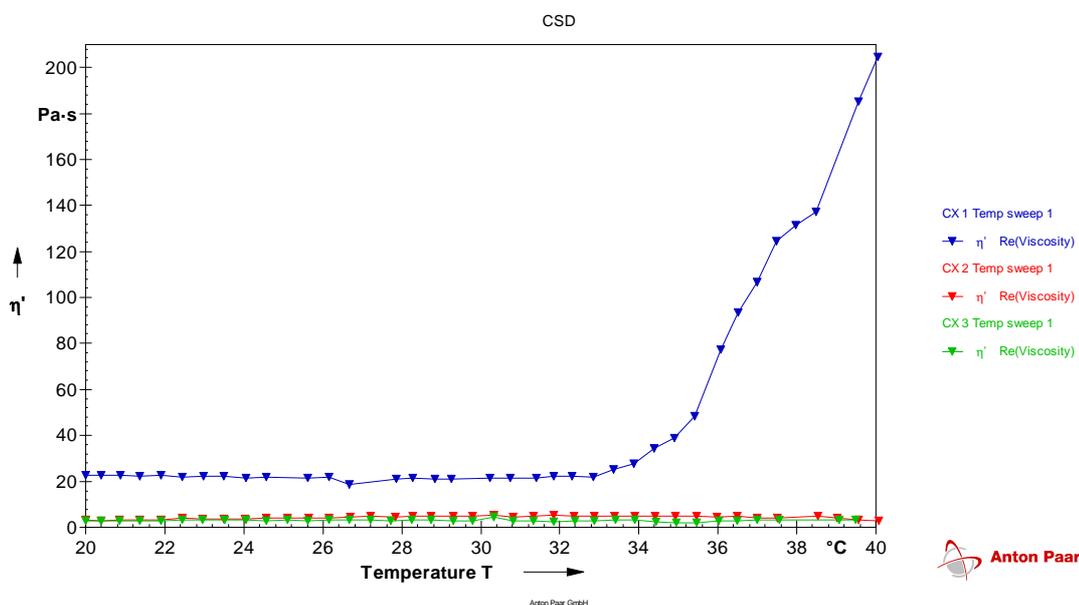


Figura 82: Viscosidade em função da temperatura para as formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, a 20°C.

### 5.3.6 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As Figuras 83-88 apresentam as imagens, obtidas por MEV, da estrutura interna das formulações Pnipam VC-SC-NPsAg, obtidas após remoção da água das matrizes por liofilização. Observa-se que as formulações Pnipam VC1-SC-NPsAg, Pnipam VC2-SC-NPsAg e Pnipam VC3-SC-NPsAg apresentam estrutura interna altamente porosa. Em todas as amostras não foi possível identificar as nanopartículas de prata sobre a superfície da Pnipam, o que sugere que as partículas de prata apresentam-se sob dimensões estimadas de poucos nanômetros, não visíveis para a maior magnitude de ampliação utilizada. Pela análise de mapeamento da prata por EDS se observa a presença de NPsAg dispersas homogêneas na forma do complexo SC-NPsAg na matriz polimérica de Pnipam.

A Figura 83 apresenta a micrografia MEV da formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg. Observa-se uma estrutura com poros alongados, com tamanhos semelhantes. Observa-se também a presença de superfícies rugosas e compactas, sem porosidade.

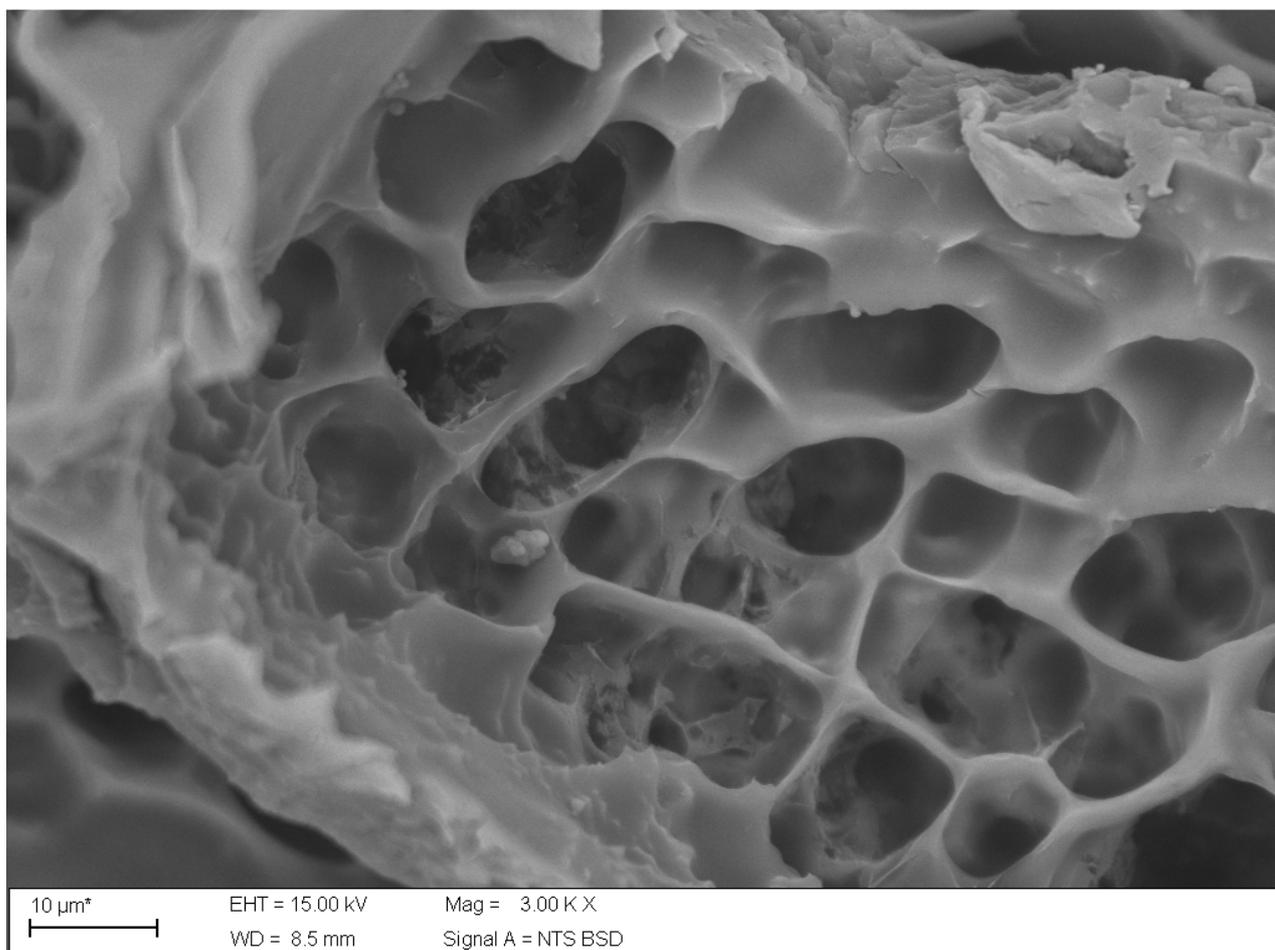


Figura 83: Micrografia MEV para a formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg

A Figura 84 apresenta o mapeamento MEV-EDX da formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg. A presença de prata é evidenciada ao longo de toda estrutura da amostra, representada por pontos verdes. Os espectros mostraram sinais de carbono (C), oxigênio (O), nitrogênio (N) e enxofre (S), provenientes do SC, além da Ag que está presente no complexo.

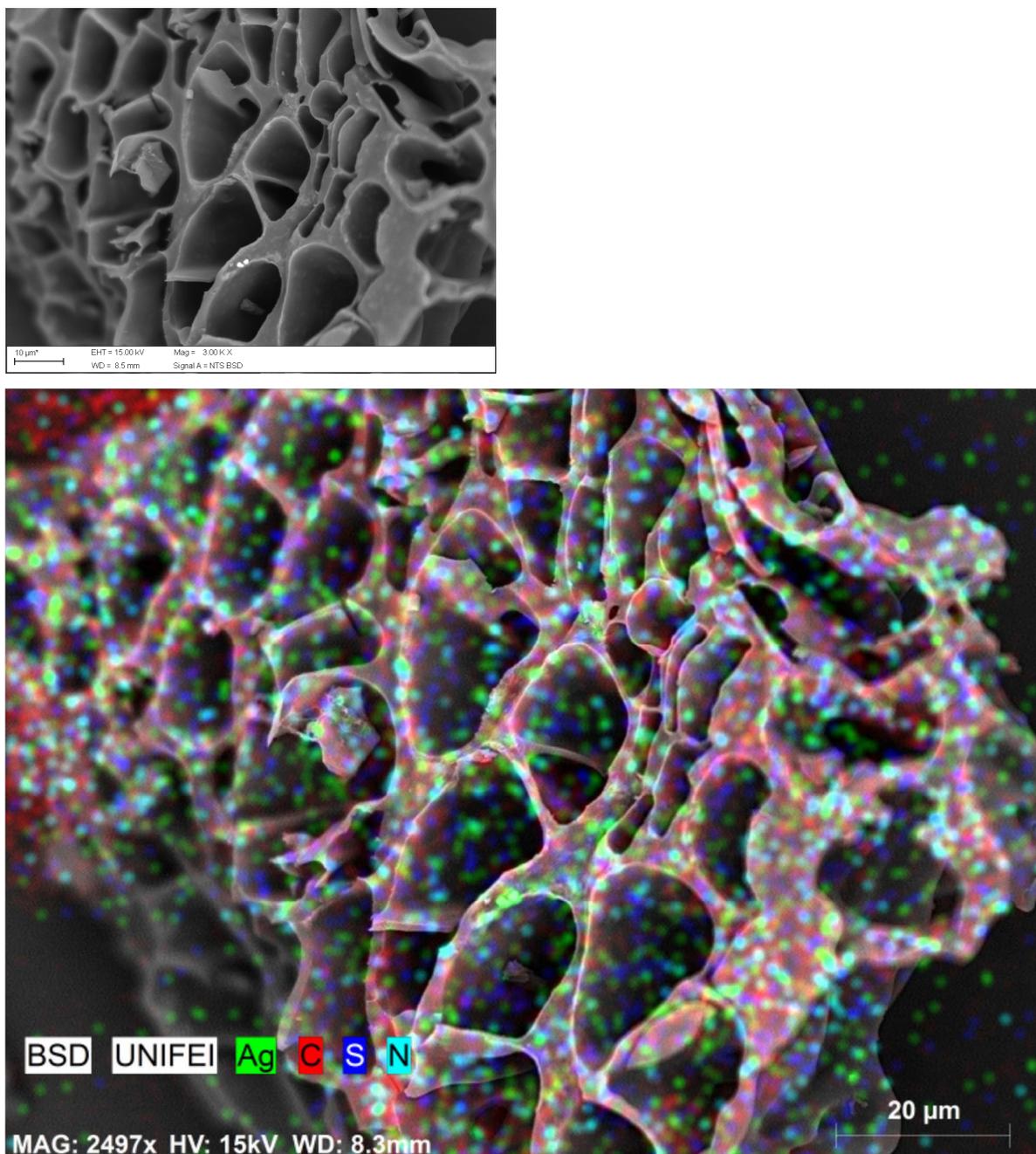


Figura 84: Mapeamento MEV-EDS para a formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg.

A Figura 85 apresenta a micrografia MEV da formulação Pnipam VC2-SC-NPsAg em ampliação de 3000X. Observa-se estrutura com poros alongados e fechados, de distribuição de tamanhos irregulares, porém menores que os observados para a Pnipam VC1-SC-NPsAg. Além

disso, estão presentes algumas placas de formato e tamanho irregulares, depositadas sobre a estrutura porosa.

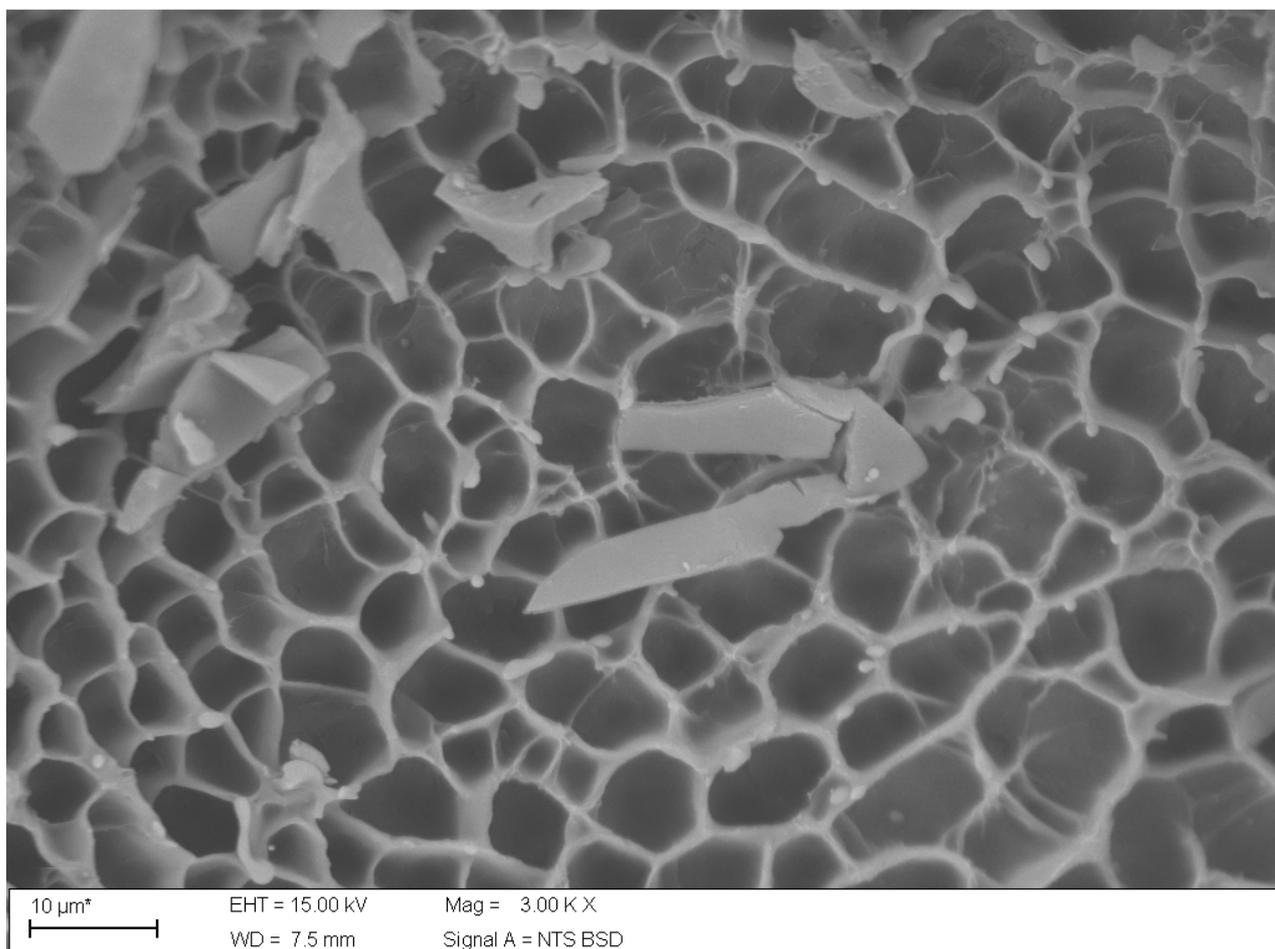


Figura 85: Micrografia MEV para a formulação Pnipam VC2-SC-NPsAg.

A Figura 86 apresenta o mapeamento por MEV-EDX da superfície da formulação Pnipam VC2-SC-NPsAg. Aqui, observa-se a estrutura apresenta estrutura com poros maiores, com diâmetro médio de cerca de 6 μm, e também apresenta poros de tamanho muito menores, por toda a extensão da rede polimérica. Na parte superior direita e no canto superior esquerda é observado uma estrutura mais compacta, sem poros. O mapeamento por EDX evidencia a presença de prata na estrutura, representada por pontos verdes.

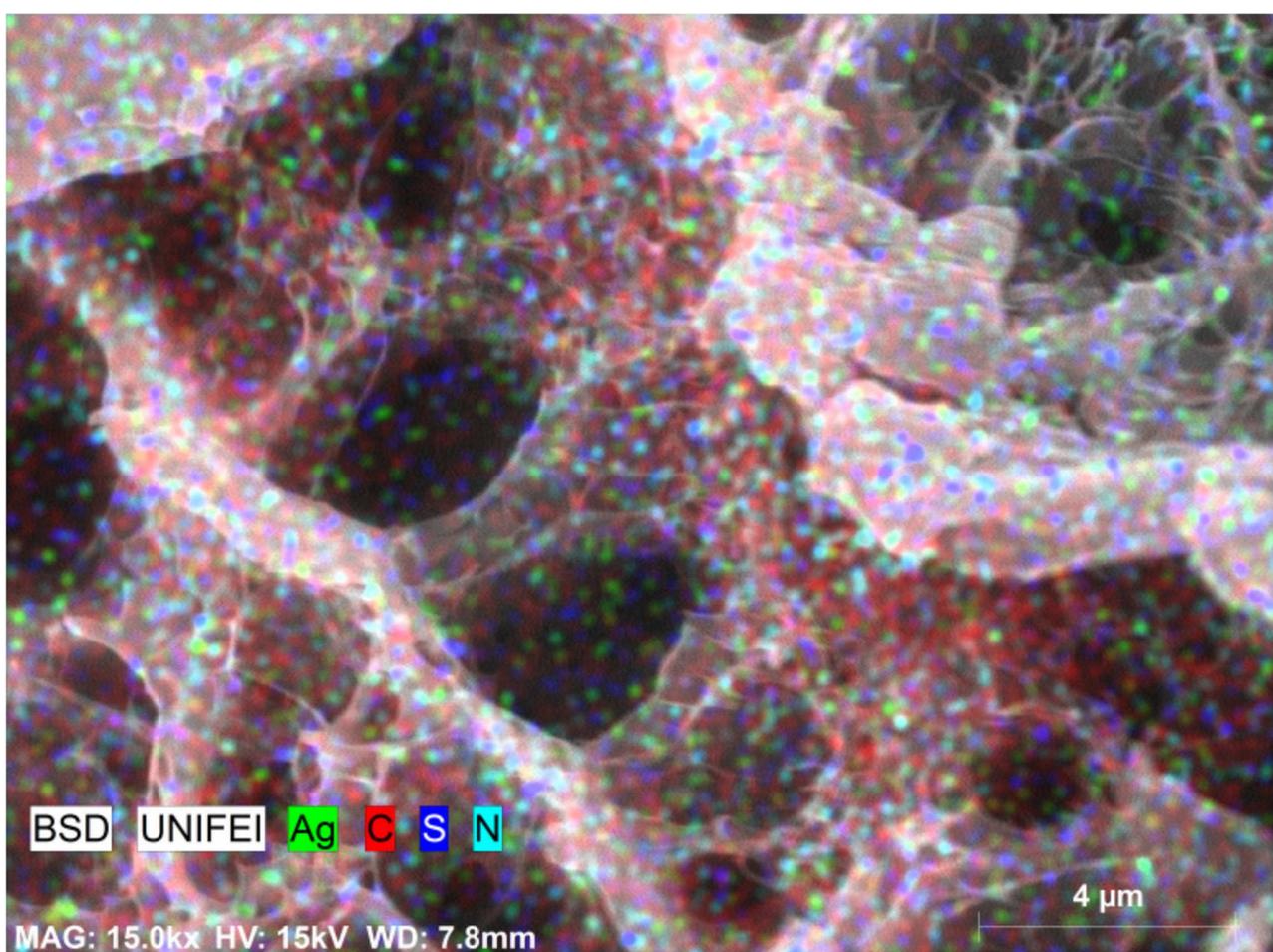
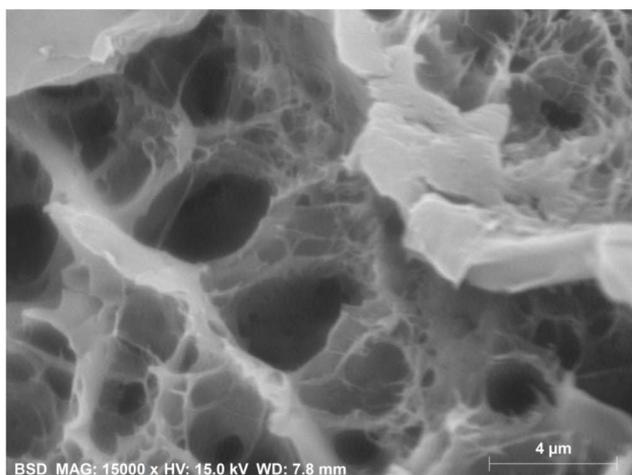


Figura 86: Mapeamento MEV-EDS para a formulação Pnipam VC2-SC-NPsAg.

A Figura 87 apresenta a micrografia MEV da formulação Pnipam VC3-SC-NPsAg. Observa-se estrutura porosa, com poros fechados, com distribuição de tamanho irregulares. O lado direito da micrografia MEV revela estrutura com paredes mais estreitas e ramificadas. Ainda, algumas placas finas e compactas são observadas sobre a rede porosa.

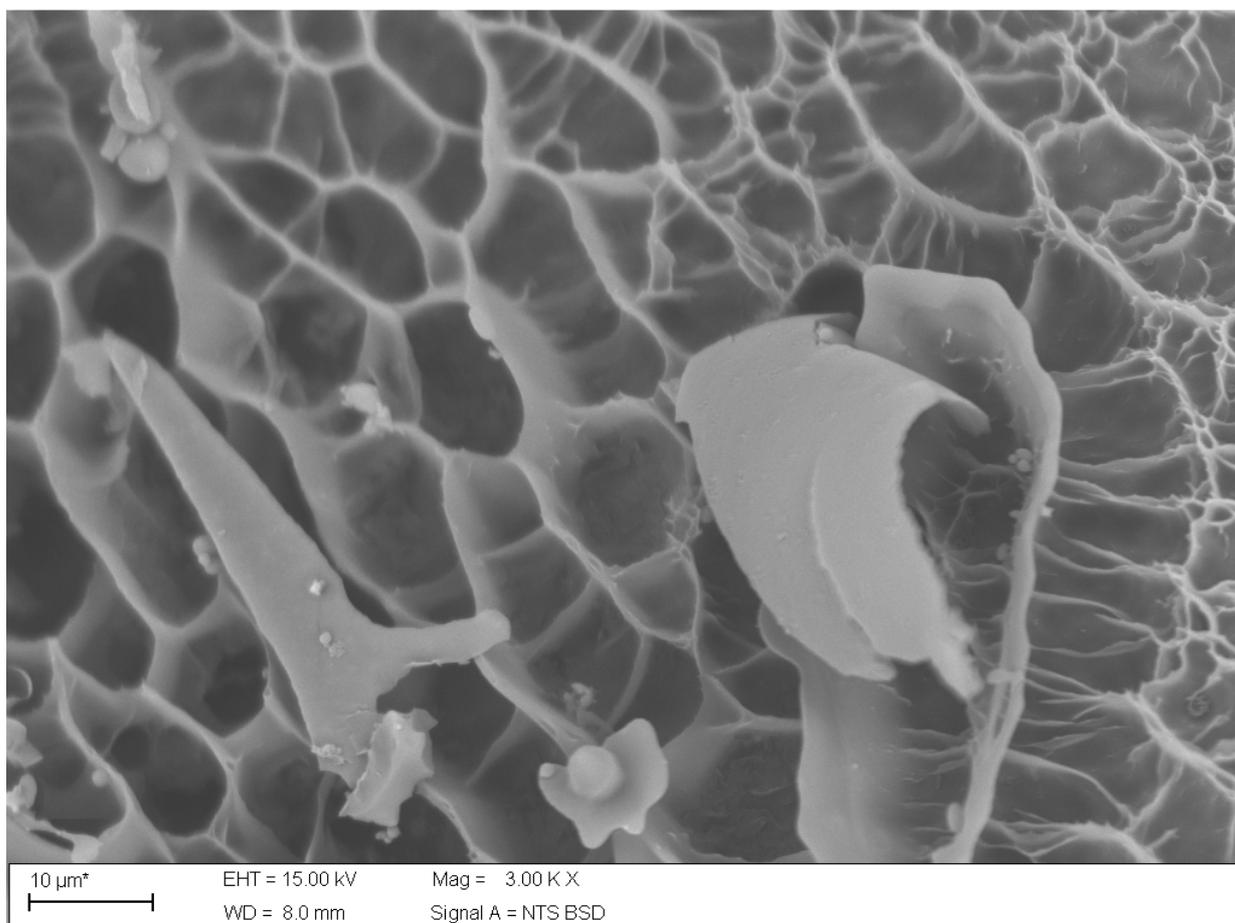


Figura 87: Micrografia MEV para a formulação Pnipam VC3-SC-NPsAg.

Uma análise de mapeamento de prata por espectroscopia de energia dispersiva, EDS, Figura 88 indica a presença de nanopartículas de prata metálica impregnadas e distribuídas por toda a superfície da Pnipam.

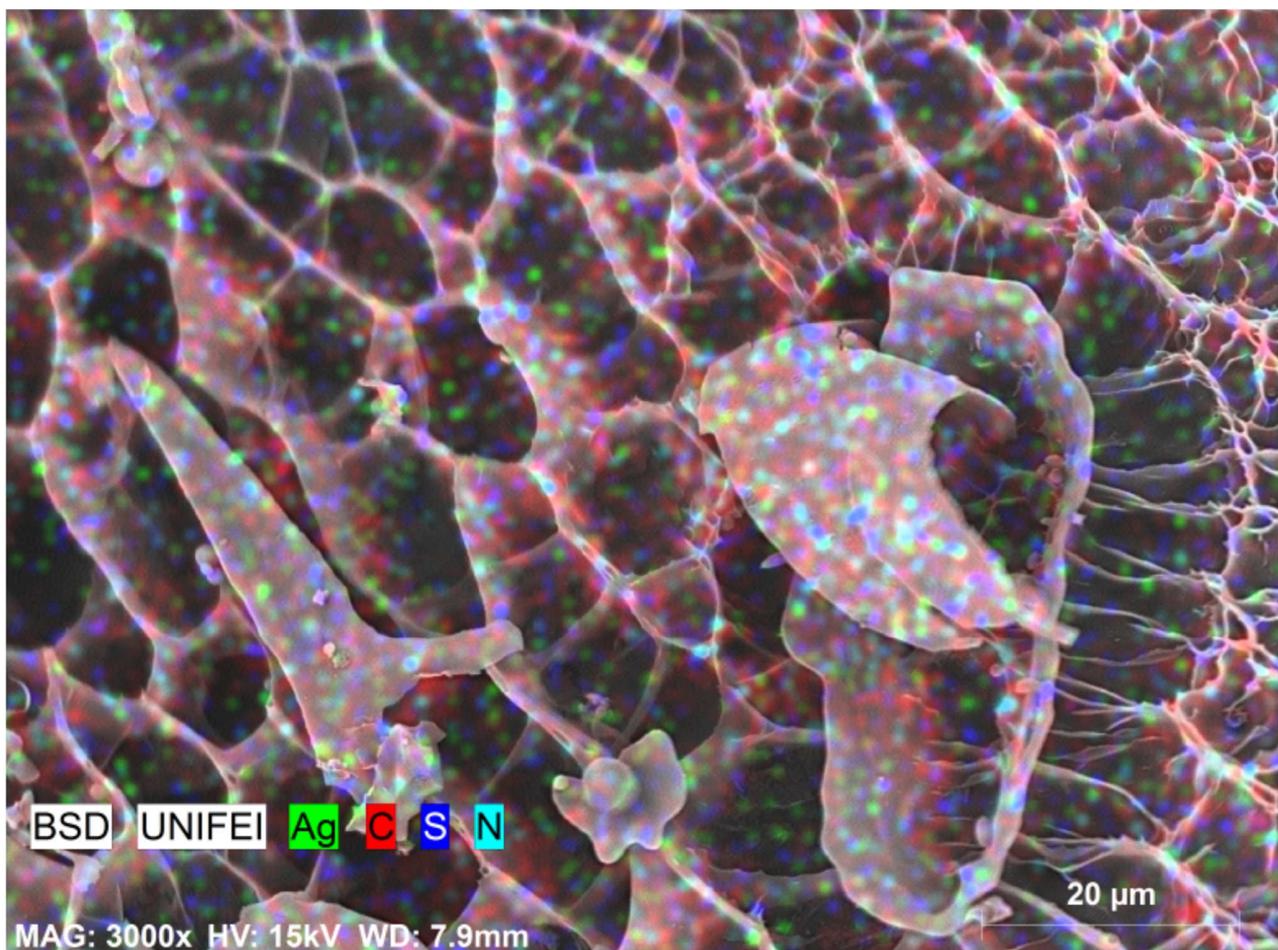


Figura 88: Mapeamento MEV-EDS para a formulação Pnipam VC3-SC-NPsAg.

## VI – CONCLUSÕES

---

A seguir comentamos as principais conclusões obtidas durante o desenvolvimento da pesquisa.

Os hidrogéis termosensíveis de Pnipam, contendo diferentes quantidades de agente reticulante, foram sintetizados com êxito por via eletroquímica usando a técnica de voltametria cíclica (VC). A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) confirmou a polimerização dos hidrogéis, a partir do desaparecimento da banda C=C presente no monômero. O espectro FTIR também mostrou as bandas características da Pnipam. A técnica de FTIR foi útil para comprovar os diferentes graus de reticulação dos hidrogéis a partir do estudo da razão entre as áreas da banda Amida I e a banda do grupo isopropil. O FTIR confirma que ao aumentar o teor de agente reticulante aumenta o grau de reticulação.

A análise termogravimétrica (TGA) mostrou que a temperatura de degradação ( $T_d$ ) não depende do grau de reticulação dos hidrogéis. Porém, a quantidade de água adsorvida na matriz polimérica, assim como o resíduo não degradado a  $800^\circ\text{C}$ , é maior no hidrogel com maior teor de reticulante (Pnipam VC3). A análise por calorimétrica exploratória diferencial (DSC) mostrou um aumento na temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) na medida em que se aumenta a concentração de agente reticulante nos hidrogéis. A temperatura de transição de fase (LCST), determinada em função da temperatura por diferentes técnicas (UV-Vis, VC e estudos de intumescimento) ficou na faixa entre 30 a  $32,5^\circ\text{C}$ , não mostrando dependência com os diferentes graus de reticulação do hidrogel.

Os estudos de intumescimento foram realizados em diferentes modelos, a  $23$  e  $37^\circ\text{C}$ . Todos os hidrogéis diminuem consideravelmente o intumescimento a  $37^\circ\text{C}$ , confirmando as características hidrofóbicas da matriz após a transição LCST. Os resultados de intumescimento mostram que a cinética ajusta-se melhor ao modelo de segunda-ordem ou modelo de Ho. O grau de intumescimento também varia conforme muda a força iônica da solução. Foi observado que o aumento da força iônica do meio diminui consideravelmente o grau de intumescimento dos hidrogéis. O estudo da retenção da água é uma medida da velocidade de resposta do hidrogel com a mudança da temperatura. Este estudo mostrou a influência da força iônica do meio, sendo que os hidrogéis respondem mais rapidamente quando em solução de maior força iônica. O hidrogel com

maior reticulação (Pnipam VC3) retém maior teor água na matriz após atingir o equilíbrio de desintumescimento.

As análises reológicas mostraram uma resposta elástica do material, com alto valor de módulo elástico (1-10 kPa), na faixa de tensão de cisalhamento de 1-10 Pa. Só foi possível observar o aumento do módulo elástico com a temperatura para o hidrogel Pnipam VC2. Porém, o aumento da viscosidade com a temperatura foi observada em todas as amostras, sendo mais significativo no hidrogel Pnipam VC2. As micrografias obtidas por MEV dos hidrogéis, não intumescidos, mostram uma morfologia heterogênea da superfície, observando regiões rugosas e compactas. As regiões compactas são observadas de maneira homogênea na superfície do hidrogel com maior grau de reticulação.

A cinética da síntese verde de NPsAg com sulfato de condroitina foi estudada no tempo por UV-vis, através da Banda de Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS). A síntese verde mostrou que a reação segue uma cinética de primeira ordem. O complexo SC-NPsAg obtido foi caracterizado por FTIR TGA, DSC, MEV e determinação de tamanho de partícula. O FTIR confirmou a formação de um complexo entre o SC e as NPsAg através dos deslocamento das bandas dos agrupamentos, carboxila, sulfato e hidroxilas, sugerindo fortes interações químicas entre a Ag e átomo de oxigênio presente nestes grupos. A interação entre o SC e as NPsAg muda o perfil de degradação do SC. As NPsAg desestabilizam termicamente o SC, o que foi confirmado por DSC. O MEV mostra a superfície homogênea do complexo SC-NPsAg observando-se por EDS a prata nanométrica distribuída através da matriz de SC. As curvas de distribuição de tamanho de partículas do complexo SC-NPsAg, obtidas pela técnica de espalhamento de luz mostraram que as partículas de prata apresentam um elevado grau de polidispersão de tamanhos entre 30 a 140 nm.

A formulação final (Pnipam VC-SC-NPsAg) foi obtida através de intumescimento do hidrogel Pnipam em solução do complexo SC-NPsAg e posterior liofilização. As formulações Pnipam VC-SC-NPsAg foram caracterizadas por FTIR TGA, DSC, MEV, análises reológicas e estudos de intumescimento. O FTIR confirmou a incorporação e interação entre a matriz do hidrogel e o complexo SC-NPsAg. O TGA mostrou uma desestabilização térmica (diminuição da temperatura de degradação) da matriz do hidrogel de Pnipam VC com a presença do complexo, observando-se também uma degradação maior da cadeia polimérica (menor resíduo). O DSC confirma que existe uma forte interação entre a Pnipam e o complexo, pois se observa um aumento da Tg da matriz de Pnipam na presença do complexo SC-NPsAg. O estudo do intumescimento

também mostra um forte efeito da temperatura. A cinética de intumescimento a 23°C se ajusta a uma segunda ordem, porém a 37°C os dados se ajustaram a uma cinética de primeira ordem. Os estudos de reologia mostram um módulo elástico menor nas formulações Pnipam-SC-NPsAg, porém estas apresentam uma faixa de viscoelasticidade maior (entre 0,2 a 10 Pa). O aumento do módulo elástico e da viscosidade com a temperatura só foi observado na formulação Pnipam VC1-SC-NPsAg. O MEV confirma a distribuição homogênea do complexo SC-NPAg na matriz do hidrogel.

Observamos que a liberação das NPsAg é fortemente influenciada pela temperatura, sendo que a 37 °C é liberado um valor médio em torno de 37 % da massa inicial do complexo SC-NPsAg. Porém, a 25 °C se libera um valor médio de 59,7 % da massa inicial. Este resultado é desejado para a aplicação esperada para a formulação desenvolvida, tendo assim uma liberação mais lenta e prolongada, mantendo as nanopartículas por mais tempo em contato com os tecidos locais, permitindo a ação antimicrobiana. O uso da formulação como biomaterial de preenchimento pode estabelecer conectividade com os tecidos do local de implante, mantendo em sua estrutura a substancia bioativa, neste caso o complexo SC-NPAg.

Ao fim do trabalho podemos concluir que os resultados foram satisfatórios e promissores.

## VII- TRABALHOS FUTUROS

---

Tendo concluído as etapas básicas de síntese e caracterização das matrizes poliméricas de Pnipam VC, do complexo formado entre SC-NPsAg e a formulação final Pnipam VC-SC-NPsAg, surgem novas propostas para complementação e melhor conhecimento das características do produto final obtido, com vistas a melhor aplicação e eficácia do mesmo. Segue as novas propostas:

- ✓ Realizar a síntese e caracterização de hidrogéis de Pnipam por VC, mas secos agora por liofilização, o que deve permitir maior porosidade;
- ✓ Inclusão do complexo SC-NPsAg durante a síntese dos hidrogéis de Pnipam e caracterização dos mesmos;
- ✓ Realização de testes de seringabilidade;
- ✓ Realização de testes microbiológicos para comprovar a ação antimicrobiana das NPsAg;
- ✓ Realização de testes de biocompatibilidade das formulações finais Pnipam VC-SC-NPsAg.

## VIII - BIBLIOGRAFIA

---

ABDEL-MOHSEN, A. M. et al. Antibacterial activity and cell viability of hyaluronan fiber with silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 1177-1187, 2013.

AGNIHOTRI, S.; MUKHERJI, S.; MUKHERJI, S. Antimicrobial chitosan-PVA hydrogel as a nanoreactor and immobilizing matrix for silver nanoparticles. **Applied Nanoscience**, v. 2, p. 179-188, 2012.

ALBERNAZ, V. L. **Síntese verde de nanopartículas de prata usando extrato aquoso de folhas de *Brosimum gaudichaudii*, caracterização físicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico**. Universidade de Brasília. Brasília, p. 122. 2014.

ALLEONI, L. R. F.; DE CAMARGO, O. A. Modelos de dupla camada difusa de Gouy-Chapman e Stern aplicados a latossolos ácidos paulistas. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 2, p. 315-320, 1994.

ALLI, A.; HAZER, B. Poly(N-isopropylacrylamide) thermoresponsive cross-linked conjugates containing polymeric soybean oil and/or polypropylene glycol. **European Polymer Journal**, v. 44, p. 1701-1713, 2008.

ALMEIDA, J. F. D. S. **Preparação e Caracterização de Hidrogéis para Aplicações Biomédicas**. Universidade de Coimbra. Coimbra, p. 308. 2010.

ANTONIO, T. C. et al. **Determinação de coeficientes de difusão em hidrogel de celulose bacteriana**. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ. Florianópolis - SC: [s.n.]. 2014. p. 7.

ANTUNES, F. S. et al. Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. **Estudos tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 1, p. 20-26, 2013.

AVERICK, S. et al. Well-defined biohybrids using reversible-deactivation radical polymerization procedures. **Journal of Controlled Release**, v. 205, p. 45-57, 2015.

BAI, X. et al. Self-reinforcing injectable hydrogel with both high water content and mechanical strength for bone repair. **Chemical Engineering Journal**, v. 288, p. 546-556, 2016.

BAJPAI, A. K.; BAJPAI, J.; SHUKLA, S. Water sorption through a semi-interpenetrating polymer network (IPN) with hydrophilic and hydrophobic chains. **Reactive and Functional Polymers**, v. 50, p. 9-21, 2001.

BAJPAI, S. K. et al. Silver nanoparticles loaded thermosensitive cotton fabric for antibacterial application. **Journal of Industrial Textiles**, v. 44, n. 1, p. 58-69, 2014.

BAL, A. et al. Synthesis and characterization of copolymer and terpolymeric hydrogel-silver nanocomposites based on acrylic acid, acrylamide and itaconic acid: investigation of their antibacterial activity against gram negative bacteria. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 32, n. 2, p. 509-518, 2015.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2ª Edição. ed. [S.l.]: John Wiley & Sons, Inc, 2001.

BARRETO, R. B. et al. Transplante Autólogo de Condrócitos. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 19, n. 4, p. 219-225, 2011.

BAVARESCO, V. P. **Recobrimento de substratos rígidos com hidrogel para utilização como superfície articular**. Universidade Federal de Campinas - UNICAMP. Campinas, p. 150. 2000.

BIANCHERA, A. et al. Chitosan hydrogels for chondroitin sulphate controlled release: an analytical characterization. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, p. 1-8, 2014.

BOKIAS, G.; MYLONAS, Y.; STAIKOS, G. Synthesis and aqueous solution properties of novel thermoresponsive graft copolymers based on a carboxymethylcellulose backbone. **Macromolecules**, v. 34, p. 4958-4964, 2001.

BORTOLIN, A. et al. Investigação do Processo de absorção de água de hidrogéis de polissacarídeo: efeito da carga iônica, presença de sais, concentrações de monômero e polissacarídeo. **Polímeros**, v. 22, n. 4, p. 311-317, 2012.

BRANT, A. J. C. Preparação e caracterização de hidrogéis a partir de misturas de soluções de quitosana e Poli(N-vinil-2-pirrolidona). **Programa de Pós Graduação em Química - USP**, São Paulo, 2008. 170.

BRASIL, P. Portal Brasil, 2014. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2012/04/osteoartrose>>. Acesso em: 06 agosto 2015.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electrochemistry: Principles, Methods and Applications**. 2ª edição. ed. New York: Oxford University Press, 1994.

BRITO, C. W. Q. et al. Síntese e caracterização de hidrogéis compósitos a partir de copolímeros acrilamida-acrilato e caulim: efeito da constituição de diferentes caulins do nordeste. **Química Nova**, v. 36, n. 1, p. 40-45, 2013.

BROWNSON, D. A. C.; KAMPOURIS, D. K.; BANKS, C. E. Graphene electrochemistry: fundamental concepts through to prominent applications. **Chemical Society Reviews**, v. 41, p. 6944-6976, 2012.

BUENO, V. A. B. **Produção de hidrogéis micro e nanoestruturados**. Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 220. 2010.

- BUKZEM, A. D. L. **Influencia dos parametros reacionais na sintese de carboximetilquitosana e estudo cinético e termodinâmico de sua interação com íons cobre (II) em soluções aquosas.** Universidade Estadual de Goiás. Anápolis -GO, p. 105. 2013.
- BUNHAK, É. J. et al. Análises Físico-Químicas de biofilmes de Sulfato de Condroitina Modificado. **Química Nova**, v. 38, n. 3, p. 316-320, 2015.
- BUNSOW, J.; JOHANNSMANN, D. Electrochemically produced responsive hydrogel films: Influence of added salt on thickness and morphology. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 326, p. 61-65, 2008.
- CALLISTER, J. **Ciencia e Engenharia de Materiais: Uma Introdução.** 5ª Edição. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.
- CAMPESE, G. M. et al. Módulo de Elasticidade de hidrogéis termosensíveis à base de Nipaaam associado individualmente com quitosana e poli(acrilamida). **Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais - CBECIMAT**, Foz do Iguaçu - PR, 15-19 novembro 2006.
- CARACTERIZAÇÃO de eletrodos de difusão de gás de células a combustível do tipo membrana trocadora de prótons, 2009. Disponível em: <(http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1517-70762009000400005)>. Acesso em: 19 setembro 2013.
- CARAMIT, R. P. et al. **Estudos voltamétricos do ferricianeto de potássio utilizando eletrodos de carbono vítreo e pasta de carbono com e sem modificação química com alumino-silicato.** XLVI Congresso Brasileiro de Química. Salvador: [s.n.]. 2006. p. 1.
- CARBINATTO, F.M. **Matrizes poliméricas reticuladas de alta amilose e pectina para liberação controlada de fármacos.** Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho. Araraquara, p.111. 2010.
- CARONI, A. L. P. F. **Estudos de adsorção de tetraciclina em partículas de quitosana.** Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, p. 145. 2009.
- CAYKARA, T.; KIPER, S.; DEMIREL, G. Network parameters and volume phase transition behavior of Poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 101, p. 1756-1762, 2006.
- CESSA, R. M. et al. Área superficial específica, porosidade da fração argila e adsorção de fósforo em dois latossolos vermelhos. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 33, p. 1153-1162, 2009.
- CHANG, M. C. Modification of Hydroxyapatite/gelatin nanocomposite with the addition of chondroitin sulfate. **Journal of the Korean Ceramic Society**, v. 45, n. 10, p. 573-578, 2008.
- CHEARUIL, F. N.; CORRIGAN, O. I. Thermosensitivity and release from poly N-isopropylacrylamide-polyactide copolymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 366, p. 21-30, 2009.
- CHENG, K.-M. et al. Green synthesis of chondroitin sulfate-capped silver nanoparticles: characterization and surface modification. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 195-202, 2014.

- CHUNG, I.-M. et al. Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: their characteristic properties and therapeutic applications. **Nanoscale Research letters**, v. 11, p. 40-54, 2016.
- CHUNSHENG, X. et al. Review - Recent developments in intelligent biomedical polymers. **Science in China B: Chemistry**, 2009. 117-130.
- COELHO, T. C. **Síntese e Caracterização de Heparina de baixa massa molar**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 36. 2004.
- COHEN, M. et al. Transplante osteocondral autólogo no tratamento de lesões condrais na patela. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 47, n. 3, p. 348-353, 2012.
- COLE, M. A. et al. Stimuli-responsive interfaces and systems for the control of protein–surface and cell–surface interactions. **Biomaterials**, v. 30, p. 1827-1850, 2009.
- COLI, M. **Síntese e Caracterização de Nanopartículas de prata em matrizes de hidrogéis termosensíveis**. Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, p. 101. 2013.
- COOPERSTEIN, M. A.; CANAVAN, H. E. Biological Cell Detachment from Poly(N-isopropyl acrylamide) and Its Applications. **Langmuir**, v. 26, n. 11, p. 7695-7707, 2010.
- COSTA, C. M. A. **Técnicas de mensuração da temperatura corporal: uma especial atenção para as variações da temperatura da pele mensuradas por termografia ao longo do dia**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, p. 107. 2012.
- COSTA, D. R. et al. **Preparo e caracterização de blendas PVA-CMC como biomateriais**. 7º Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. Natal - RN: [s.n.]. 2012. p. 7.
- COSTA, M. C. M. **Caracterização de Polímeros inteligentes para aplicações biomédicas**. Universidade de Coimbra. Coimbra, p. 98. 2012.
- COUGHLAN, D. C.; CORRIGAN, O. I. Drug–polymer interactions and their effect on thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide) drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 313, p. 163-174, 2006.
- CRACIUNESCU, I. et al. Synthesis, characterization and drug delivery application of the temperature responsive pNIPA hydrogel. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 182, 2009.
- CREMONEZ, C. P.; BENTLEY, M. V. L. B.; LARA, M. G. Caracterização do intumescimento de sistemas líquido-cristalinos de fase lamelar de monoleína e água contendo polihexametilenobiguanida. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 4, p. 545-553, 2013.
- CRISPIM, E. G. **Síntese e caracterização de hidrogéis de Poli(Álcool Vinílico) modificado com metacrilato de Glicidila (PVA-Ma associado com sulfato de condroitina)**. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, p. 122. 2006.

CRISPIM, E. G. et al. Hydrogels based on chemically modified poly(vinyl alcohol) (PVA\_GMA) and PVA-GMA/chondroitin sulfate: Preparation and characterization. **Polymer Letters**, v. 6, n. 5, p. 383-395, 2012.

CRUZ, E. P. **Brasil tem alto índice de desempregados entre pacientes com artrite reumatóide**. Empresa Brasileira de Comunicação. [S.l.], p. <http://www.ebc.com.br/noticias/2015/10/brasil-tem-alto-indice-de-desempregados-entre-pacientes-com-artrite-reumatoide>. 2015. (Criado em 09/10/15. Acesso em 11/05/16).

CUGGINO, J. C.; STRUMIA, M. C.; IGARZABAL, C. I. A. Synthesis, characterization and slow drug delivery of hydrogels based in N-acryloyl-tris (hydroxymethyl) aminomethane and N-isopropyl acrylamide. **Reactive and functional polymers**, p. 30, 2010.

DAMM, C.; MUNSTEDT, H.; ROSCH, A. The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver nano and microcomposites. **Materials Chemistry and Physics**, v. 24, n. 1, p. 61-66, 2008.

DE LIMA, B. V. **Avaliação das propriedades físico-químicas de sistemas à base de carboximetilcelulose e Poli(N-isopropilacrilamida) em soluções aquosas para aplicação na indústria do petróleo**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, p. 186. 2014.

DE MIRANDA, J. A. T. **Determinação simultânea de aspirina e ácido ascórbico em medicamentos usando análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica**. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, p. 107. 2011.

DE MOURA, M. J. C. **Preparação e caracterização de hidrogéis de quitosano para administração por via injetável**. Universidade de Coimbra. Coimbra, p. 261. 2014.

DE OLIVEIRA, S. D. S. **Aplicação das técnicas eletroanalíticas (voltametria cíclica e de pulso diferencial) usando o eletrodo de diamante dopado com boro para o estudo da isoniazida, etambutol, rifampicina e pirazinamida**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, p. 130. 2013.

DE SÁ, E. M. F.; BOLZAN, A.; MACHADO, R. A. **estudo de nucleação e crescimento de nanopartículas de prata obtidas por redução química**. Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis - SC, p. 1-8. 2014.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e preparação de amostras**. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS). Porto Alegre, p. 60. 2007.

DEKA, S. R. et al. Magnetic nanobeads decorated by thermo-responsive PNIPAM shell as medical platforms for the efficient delivery of doxorubicin to tumour cells. **Nanoscale**, v. 3, p. 619-629, 2011.

DEROSA, M. E. et al. Phase Separation of Poly(N-isopropylacrylamide) Solutions and Gels Using a Near Infrared Fiber Laser. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 105, p. 2083-2090, 2007.

DIAS, C. N. K. **Avaliação da recuperação da cartilagem articular do tornozelo de ratos após aplicação de um protocolo de alongamento cíclico da musculatura posterior da perna após imobilização.**

Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, p. 50. 2008.

DIAS, C. N. K. **Avaliação da recuperação da cartilagem articular do tornozelo de ratos após aplicação de um protocolo de alongamento cíclico da musculatura posterior da perna após imobilização.**

Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, p. 50. 2008.

DIMITROV, I. et al. Thermosensitive water-soluble copolymers with doubly responsive reversibly interacting entities. **Progress in Polymer Science**, v. 32, p. 1275-1343, 2007.

DOS ANJOS, A. R.; ALVARES-SILVA, M.; BORELLI, P. Matriz Extracelular e Leucemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 22, n. 3, p. 404-412, 2000.

DOS SANTOS, C. V. **Sulfato de Condroitina: da matéria prima à terapêutica.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 80. 2012.

DOU, Y. et al. Temperature-Controlled Electrochemical Switch Based on Layered Double Hydroxide/Poly(N-isopropylacrilamide) Ultrathin Films Fabricated via Layer-by-Layer Assembly. **Langmuir**, v. 28, p. 9535-9542, 2012.

DRAGAN, E. S. Design and applications of interpenetrating polymer networks hydrogels. A review. **Chemical Engineering Journal**, 572-590, 2014.

EECKMAN, F.; AMIGHI, K.; MOES, A. J. Effect of some physiological and non-physiological compounds on the phase transition temperature of thermoresponsive polymers intended for oral controlled-drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 222, p. 259-270, 2001.

EECKMAN, F.; MOES, A. J.; AMIGHI, K. Poly(N-isopropylacrylamide) copolymers for constant temperature controlled drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 273, p. 109--119, 2004.

EGGERS, D. K. Hofmeister Series. **Chemistry**, 2015. Disponível em: <<http://www.chemistry.sjsu.edu/deggers/Hofmeister.htm>>. Acesso em: 13 novembro 2015.

ELEOTÉRIO, R. B. **Efeito do Sulfato de Condroitina e glucosamina na reparação de defeitos osteocondrais experimentais no côndilo femoral de cão.** Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, p. 145. 2011.

ELIAS, P. Z. et al. A functionalized, injectable hydrogel for localized drug delivery with tunable thermosensitivity: Synthesis and characterization of physical and toxicological properties. **Journal of Controlled Release**, v. 208, p. 76-84, 2015.

ELLIOTT, L. C. C. **Single molecule tracking studies of Lower Critical Solution Temperature Transition behavior in Poly(N-isopropylacrylamide).** Universidade de Illinois. Urbana, p. 172. 2011.

ESCOBAR, J. L. et al. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y LA COMPOSICION DE LOS COPOLIMEROS SOBRE EL PROCESO DE HINCHAMIENTO EN HIDROGELES DE POLI-(N-ISOPROPILACRILAMIDA-CO-N,N,DIMETILACRILAMIDA). **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 4(4), Dezembro 2003.

FAJARDO, A. R. **Caracterização de complexos polieletrólíticos de Quitosana/Sulfato de Condroitina em diferentes condições de pH e tempo de imersão**. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, p. 97. 2009.

FAJARDO, A. R. et al. Time and pH dependent self-rearrangement of a swollen polymer network based on polyelectrolytes complexes of chitosan/chondroitin sulfate. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 934-943, 2010.

FAJARDO, A. R. et al. Hidrogel based on an alginate Ca<sup>2+</sup>/chondroitin sulfate matrix as a potential colon-specific drug delivery system. **The Royal Society of Chemistry**, v. 2, p. 11095-11103, 2012.

FAJARDO, A. R. et al. Polyelectrolyte complexes based on pectin-NH<sub>2</sub> and chondroitin sulfate. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1950-1955, 2012.

FENG, Q. L. et al. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 52, p. 662-668, 2000.

FERNANDES, L. L. **Produção e caracterização de membranas de quitosana e quitosans com sulfato de condroitina para aplicações biomédicas**. Riode Janeiro, p. 63. 2009.

FILHO, J. F. D. S. **ESTUDO DOS PARÂMETROS DE SÍNTESE DO GEL TERMOSENSÍVEL POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA)**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 82. 2005.

FILHO, M. M. C. et al. Atualização no diagnóstico e tratamento das lesões condrais do joelho. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 47, n. 1, p. 12-20, 2012.

FOUDA, M. M. G. et al. k-Carrageenan/poly vinyl pyrrolidone/polyethylene glycol/silver nanoparticles filme for biomedical application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 179-184, 2015.

FREITAS, L. L. et al. **Microesferas porosas de estireno-divinilbenzeno-metacrilato de glicidila**: influência da composição do diluente e do grau de reticulação na morfologia. Congresso Brasileiro de Polímeros. Campina Grande - PB: [s.n.]. 2007. p. 8.

GALHARDO, K. S. QFL2453- Físico Química Experimental, 2009. Disponível em: <[http://www2.iq.usp.br/pos-graduacao/images/documentos\\_pae/1sem2009/quimica\\_organica/quimica\\_analitica/kelly.pdf](http://www2.iq.usp.br/pos-graduacao/images/documentos_pae/1sem2009/quimica_organica/quimica_analitica/kelly.pdf)>. Acesso em: 13 novembro 2015.

GALPERIN, A.; LONG, T. J.; RATNER, B. D. Degradable, Thermo-Sensitive Poly(N-isopropyl acrylamide)-Based Scaffolds with Controlled Porosity for Tissue Engineering Applications. **Biomacromolecules**, v. 11, p. 2583-2592, 2010.

- GAN, T.; GUAN, Y.; ZHANG, Y. Thermogelable PnIpam microgel dispersion as 3D cell scaffold: effect of syneresis. **Journal of Materials Chemistry**, v. 20, p. 5937-5944, 2010.
- GANJI, F.; VASHEGHANI-FARAHANI, E. Hydrogels in controlled drug delivery systems. **Iranian Polymer Journal**, v. 18, n. 1, p. 63-88, 2009.
- GANJI, F.; VASHEGHANI-FARAHANI, S.; VASHEGHANI-FARAHANI, E. Theoretical Description of Hydrogels Swelling: a Review. **Iranian Polymer Journal**, v. 19, n. 5, p. 375-398, 2010.
- GARCÍA\_ASTRAIN, C. et al. Biocompatible hydrogel nanocomposite with covalently embedded silver nanoparticles. **Biomacromolecules**, v. 16, p. 1301-1310, 2015.
- GIBAS, I.; JANIK, H. Review: Synthetic polymer hydrogels for biomedical applications. **Chemistry and Chemical Technology**, v. 4, n. 4, p. 297-304, 2010.
- GOTOH, T.; NAKATANI, Y.; SAKOHARA, S. Novel Synthesis of Thermosensitive porous Hydrogels. **Journal of applied Polymer Science**, 1998. 895-906.
- GUERREIRO, L. M. R. **Estudo reológico dos amidos de amaranto, de mandioca e de suas misturas, sob condições de acidez e tratamento térmico**. Universidade Federal de Campinas. Campinas, p. 251. 2007.
- HEBEISH, A. et al. Thermal responsive hydrogels based on semi interpenetrating network of poly(NIPAm) and cellulose nanowhiskers. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 159-166, 2014.
- HIREMATH, J. et al. Studies on biosynthesis of silver nanoparticles using *Rhizopus* sp. and its antibacterial efficacy on *E.Coli* MDR strains. **International Letters of Natural Sciences**, v. 18, p. 27-35, 2014.
- HO, T. T. M. et al. In situ ATR FTIR spectroscopic study of the formation and hydration of a fucoidan/chitosan polyelectrolyte multilayer. **Langmuir**, v. 31, p. 11249-11259, 2015.
- HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 43, p. 3-12, 2002.
- HRUBY, M. et al. Thermoresponsive polymeric radionuclide delivery system—An injectable brachytherapy. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2011.
- HU, S.; HSIEH, Y.-L. Synthesis of surface bound silver nanoparticles on cellulose fibers using lignin as multi-functional agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, p. 134-141, 2015.
- IOZZO, R. V.; SCHAEFER, L. Proteoglycan form and function: A comprehensive nomenclature of proteoglycans. **Matrix Biology**, v. 42, p. 11-55, 2015.
- ISAUQUE, L. G. **Estudo Voltamético de citroflavonóides**. Universidade de Coimbra. Coimbra, p. 55. 2010.
- JARDIM, K. V. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana/sulfato de condroitina para nanoencapsulação da curcumina visando sua liberação controlada e avaliação de sua atividade antitumoral**. Universidade de Brasília. Brasília, p. 53. 2013.

- JHAVERI, A.; DESHPANDE, P.; TORCHILIN, V. Stimuli-sensitive nanopreparations for combination cancer therapy. **Journal of Controlled Release**, v. 190, p. 352-370, 2014.
- JIN, S. et al. Synthesis, characterization and the rapid response property of the temperature responsive PVP-g-Pnipam hydrogel. **European Polymer Journal**, v. 44, p. 2162-2170, 2008.
- JO, S.; KIM, S.; NOH, I. Synthesis of In-situ Chondroitin sulfate hydrogel through phosphine-mediated Michael type addition reaction. **Macromolecular Research**, v. 20, n. 9, p. 968-976, 2012.
- JOSEPH, S.; MATHEW, B. Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles and study on catalytic activity in the degradation of dyes. **Journal of molecular liquids**, v. 204, p. 184-191, 2015.
- JU, X.-J. et al. Effects of internal microstructures of poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels phase-transition and controlled-release characteristics. **Smart Materials and Structures**, v. 15, p. 1767-1774, 2006.
- KATIME, I. A.; KATIME, O.; KATIME, D. Materiales inteligentes: hidrogeles macromoleculares. Algunas aplicaciones biomédicas. **Anales de la Real Sociedad Espanhola de Química**, p. 35-50, 2005.
- KATIME, I.; MENDIZÁBAL, E. Swelling properties of new hydrogels based on the dimethyl amino ethyl acrylate methyl chloride quaternary salt with acrylic acid and 2-methylene butane-1,4-dioic acid monomers in aqueous solutions. **Materials Sciences and applications**, v. 1, p. 162-167, 2010.
- KAUR, G. et al. Colon delivery of Budesonide: Evaluation of chitosan-chondroitin sulfate interpolymer complex. **Americana Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 11, n. 1, p. 36-45, 2009.
- KIM, J. Y. et al. Wound healing and antibacterial activities of chondroitin sulfate- and acharan sulfate-reduced silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 24, p. 390152-390153, 2013.
- KOH, J. H. et al. Templated synthesis of silver nanoparticles in amphiphilic poly(vinylidene fluoride-co-chlorotrifluorethylene) comb copolymer. **Journal of polymer science**, v. 46, p. 702-709, 2008.
- KOPECEK, J.; YANG, J. Review: Hidrogels as smart biomaterials. **Polymer International**, 56, n. 1078-1098, 2007.
- KORYTA, J.; DVORAK, J.; KAVAN, L. **Principles of Electrochemistry**. 2ª Edição. ed. [S.l.]: John Wiley & Sons, 1993.
- KUMAR, A. C.; BOHIDAR, H. B.; MISHRA, A. K. The effect of sodium cholate aggregates on thermoreversible gelation of PNIPAM. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 70, p. 60-67, 2009.
- KUMAR, A.; SRIVASTAVA, A.; GALAEV, I. Y. Smart Polymers: Physical forms and bioengineering applications. **Progress in Polymer Science**, v. 32, p. 1205-1237, 2007.
- KUMAR, H.; RANI, R. Structural characterization of silver nanoparticles synthesized by micro emulsion route. **International Journal of Engineering and innovate technology**, v. 3, n. 1, p. 344-348, 2013.

- KURECIC, M.; SFILIGOJ\_SMOLE, M.; STANA-KLEINSCHECK, K. UV polymerization of Poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel. **Materials and Technology**, v. 46, p. 97-91, 2012.
- LABOISSIERE, P. **SUS amplia lista de distribuição de remédios para artrite**. Empresa Brasileira de Comunicação. [S.l.], p. <http://www.ebc.com.br/2012/09/sus-amplia-lista-de-distribuicao-de-remedios-para-artrite>. 2012. (Acesso em 11/05/2016).
- LAI, E.-P. et al. Preparation of uniform sized and dual stimuli responsive microspheres of Poly(N-isopropylacrylamide)/Poly(Acrylic acid) with semi IPN structure by one step method. **Polymers**, v. 8, p. 90-104, 2016.
- LAI, H.; WU, P. A infrared spectroscopic study on the mechanism of temperature-induced phase transition of concentrated aqueous solutions of poly(N-isopropylacrylamide) and N-isopropylpropionamide. **Polymer**, v. 51, p. 1404-1412, 2010.
- LEMONS, M. et al. **Análise térmica de nanopartículas de prata obtidas a partir de síntese verde**. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia - SP: [s.n.]. 2015.
- LI, Q.-F. et al. Highly luminescent hydrogels synthesized by covalent grafting of lanthanide complexes onto PNIPAm via one-pot free radical polymerization. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 4, p. 3195-3201, 2016.
- LI, Y.; RODRIGUES, J.; TOMÁS, H. Injectable and biodegradable hydrogels: gelation, biodegradation and biomedical applications. **Chemical Society Reviews**, v. 41, p. 2193-2221, 2012.
- LI, Y.; TANAKA, T. Kinetics of swelling and shrinking of gels. **The Journal of Chemical Physics**, v. 92, n. 2, p. 1365-1371, 1990.
- LIANG, Y. et al. Triply switchable bioelectrocatalysis based on Poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel films with immobilized glucose oxidase. **Electrochimica Acta**, v. 56, p. 5166-5173, 2011.
- LIN, C.-C.; METTERS, A. T. Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n. 58, p. 1379-1408, 2006.
- LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.
- LORENÇATTO, T.; TEIXEIRA, V. **Relação quantitativa entre parametro de solubilidade e grau de reticulação sobre a capacidade de troca iônica de resinas sulfônicas**. 54º Congresso Brasileiro de Química. Natal - RN: [s.n.]. 2014. p. 6.
- LU, S. et al. Thermoresponsive injectable hydrogel for three-dimensional cell culture: chondroitin sulfate bioconjugated with poly(N-isopropylacrylamide) synthesized by RAFT polymerization. **Soft Matter**, v. 7, p. 10763-10772, 2011.

LU, Y.; SUN, W.; GU, Z. Review: Stimuli-responsive nanomaterials for therapeutic delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 194, p. 1-19, 2014.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. **Caracterização de Polímeros - Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica**. 1ª Edição. ed. Rio de Janeiro: e-papers, 2001.

MA, Y. et al. Spectral study of interaction between chondroitin sulfate and nanoparticles and its application in quantitative analysis. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 153, p. 445-450, 2016.

MACHADO, F. M. **Avaliação do uso de nanopartículas de prata e atividade antimicrobiana para tratamento de águas**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 111. 2012.

MAGALHÃES, A. S. G. **Síntese e Caracterização de hidrogéis superabsorventes à base de acrilamida e acrilato de sódio**. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, p. 206. 2009.

MALMONGE, S. M.; ZAVAGLIA, C. A. C. Hidrogéis de PoliHEMA para Reparo de Defeitos da Cartilagem Articular. 1 - Síntese e Caracterização Mecânica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 22-29, 1997.

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**, v. 61, p. 188-194, 2005.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, out/dez 2002.

MANI, U. et al. A simple and green method for the synthesis of silver nanoparticles using Ricinus Communis leaf extract. **Progress in Nanotechnology and nanomaterials**, v. 2, n. 1, p. 21-25, 2013.

MARQUES, N. D. N. **Partículas inteligentes de Poli(N-isopropilacrilamida), quitosana e Poli(Ácido Acrílico): efeito da temperatura e do pH sobre suas propriedades em suspensões aquosas**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, p. 97. 2012.

MARTELLINI, F. **Matrizes Poliméricas obtidas mediante radiação ionizante para sua liberação como sistemas de liberação controlada de fármacos**. INPE - USP. São Paulo, p. 131. 1998.

MATÉRIA, T. Biologia-Fosforilação Oxidativa. **Toda Matéria**, 2016. Disponível em: <<https://www.todamateria.com.br/fosforilacao-oxidativa/>>. Acesso em: 23 setembro 2016.

MATSUSHITA, A. F. Y. et al. **Síntese e Caracterização de nanopartículas de prata no polieletrólito Cloreto de 3-N-propilpiridínio silsesquioxano para aplicação em matéria têxteis**. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, p. 12. 2012.

MAYO-PEDROSA, M. et al. Sustained Release Pellets Based on Poly(N-isopropylacrylamide): Matrix and In Situ Photopolymerization-Coated Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2007. 93-105.

- MEHL, H. **Nanocompósitos formados por nanotubos de carbono, nanopartículas de prata e polianíla: síntese e caracterização.** Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p. 142. 2011.
- MEID, J. et al. Composite hydrogels with temperature sensitive heterogeneities: influence of gel matrix on the volume phase transition of embedded poly-(N-isopropylacrylamide) microgelsw. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, p. 3039-3947, 2011.
- MOLINA, M. A.; RIVAROLA, C. R.; BARBERO, C. A. Effect of copolymerization and semi-interpenetration with conducting polyanilines on the physicochemical properties of Poly(N-isopropylacrylamide) based thermosensitive hydrogels. **European Polymer Journal**, v. 47, p. 1977-1984, 2011.
- MONTANHA, F. P.; AZEVEDO, M. G. P. Administração medicamentosa: vantagens e desvantagens das diferentes vias. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 20, n. [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/aKogti4uNzM2EtQ\\_2013-6-21-16-16-23.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/aKogti4uNzM2EtQ_2013-6-21-16-16-23.pdf), 2013.
- MONTEIRO, D. R. **Análise da incorporação de nanopartículas de prata a uma resina acrílica para base protéica.** Universidade Estadual Paulista - UNESP. Araçatuba - SP, p. 98. 2009.
- MOREIRA, C. D. F. **Avaliação da adição de colágeno tipo I e nanopartículas de vidro bioativo a hidrogéis termossensíveis de quitosana para uso na engenharia de tecido.** Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 91. 2014.
- MOTTA, C. **Preparação e caracterização de hidrogéis superabsorventes a partir de quitosana e poliacrilonitrila.** Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 36. 2009.
- MOURA, M. R. D. **Caracterização de matriz polimérica de hidrogel termossensível sintetizada a partir de alginato-Ca<sup>2+</sup> e poli(Nisopropil acrilamida), do tipo IPN e semi-IPN.** Universidade Estadual de Maringá. Maringá, p. 120. 2005.
- MUZZARELLI, R. A. A. et al. Chitosan, hyaluronan and chondroitin sulfate in tissue engineering for cartilage regeneration: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 723-739, 2012.
- MYERS, K. R.; SGAGLIONE, N. A.; GRANDE, D. A. Trends in biological joint resurfacing. **The British Editorial Society of Bone and Joint Surgery**, v. 2, n. 9, p. 193-199, 2013.
- NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery. **Adv Biochem Engin/Biotechnol** , v. 102, p. 47-90, 2006.
- NARAGINTI, S.; SIVAKUMAR, A. Eco-friendly synthesis of silver and gold nanoparticles with enhanced bactericidal activity and study of silver catalysed reduction. **Spectrochimica Acta Part A: molecular and biomolecular spectroscopy**, v. 128, p. 357-362, 2014.
- NASCIMENTO, D. S. **Determinação simultânea de Cu, Pb, Cd, Ni, Co e Zn em etanol combustível por Voltametria de Redissolução adsortiva e calibração multivariada.** Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, p. 85. 2013.

- NATH, S. et al. Ligand-stabilized metal nanoparticles in organic solvent. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 341, n. 2, p. 333, 2009.
- NAYAK, S.; LYON, A. Photoinduced Phase Transitions in Poly(N-isopropylacrylamide) Microgels. **Chemistry of Materials**, 2004. 2623-2627.
- NECKEL, I. T. **Crescimento e morfologia de ligas de CoFe<sub>100-x</sub> eletrodepositadas sobre Si (111) Tipo-n**. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p. 108. 2009.
- NETO, E. A. B.; RIBEIRO, C.; ZUCOLOTTI, V. Síntese de Nanopartículas de Prata para aplicação na sanitização de embalagens. **Embrapa Instrumentação Agropecuária**, p. 1-4, 2008.
- NIAMLANG, S.; SIRIVAT, A. Electrically controlled release of salicylic acid from poly(p-phenylene vinylene)/polyacrylamide hydrogels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 371, p. 126-133, 2009.
- OLIVEIRA, R. B.; LIMA, E. M. Polímeros na obtenção de Sistemas de Liberação de Fármacos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 1, p. 29-35, 2006.
- OPREA, A.-M. et al. Cellulose/Chondroitin sulfate hydrogels: synthesis, drug loading/release properties and biocompatibility. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 44, n. 9, p. 369-378, 2010.
- PACHECO, W. F. et al. Voltametrias: uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, 2013. Disponível em: <www.uff.br/rvq>. Acesso em: 31 de agosto de 2013 agosto 2013.
- PAL, K.; BANTHIA, A. K.; MAJUMDAR, D. K. Polymeric Hydrogels: Characterization and Biomedical Applications - A mini review. **Designed Monomers and Polymers**, n. 12, p. 197-220, 2009.
- PARAMITA, V. D.; BANNIKOVA, A.; KASAPIS, S. Release mechanism of omega-3 fatty acid in k-carrageenan/polydextrose undergoing glass transition. **Carbohydrate Polymer**, v. 126, p. 141-149, 2015.
- PARK, Y. et al. Polysaccharides and phytochemicals: a natural reservoir for the green synthesis of gold and silver nanoparticles. **nanobiotechnology**, v. 5, n. 3, p. 69-78, 2011.
- PELTON, R. Poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) is never hydrophobic. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 348, p. 673-674, 2010.
- PELTON, R. H.; CHIBANTE, P. Preparation of aqueous latices with N-isopropylacrylamide. **Colloids Surface**, 1986. 247-256.
- PEPPAS, L. B.; PEPPAS, N. A. Equilibrium swelling behavior of pH-sensitive hydrogels. **Chemical Engineering Science**, v. 46, n. 3, p. 715-722, 1991.
- PEPPAS, N. A.; LANGER, R. Advances in Biomaterials, Drug Delivery, and Bionanotechnology. **Bioengineering, Food, and natural products**, v. 49, n. 12, p. 2990-3006, Dezembro 2003.
- PEPPAS, N. A.; MERRILL, E. W. Development of semicrystalline poly(vinylalcohol) hydrogels for biomedical applications. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 11, p. 123-434, 1977.

PEREIRA, M. L.; CARVALHO, M. B. Papel dos glicosaminoglicanos no urotélio de felinos: revisão de literatura. **Ensaio e Ciência**, v. XIII, n. 1, p. 125-132, 2009.

PERRIMON, N.; BERNFIELD, M. Cellular functions of proteoglycans - an overview. **Cellular and developmental biology**, v. 12, p. 65-67, 2001.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 491-502, 2007.

PIAI, J. F. **Preparação e caracterização de complexos polieletrólitos de Quitosana/Sulfato de Condroitina e estudos de liberação controlada**. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, p. 72. 2008.

PONTES, J. F. R.; THIRÉ, R. M. S. M. **Produção e caracterização de biomateriais a base de quitosana/nanopartículas de prata**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 2. 2011.

POSCHLAD, K.; ENDERS, S. Thermodynamics of aqueous solutions containing poly (N-isopropylacrylamide). **Journal Chemistry Thermodynamics**, v. 43, p. 262-269, 2011.

POTTER, K. et al. Imaging of collagen and proteoglycan in cartilage sections using fourier transform infrared spectral imaging. **ARTHRITIS & RHEUMATISM**, v. 44, n. 4, p. 846-855, 2001.

QUEIROZ, P. M. **Síntese e Caracterização de hidrogéis superabsorventes obtidos a partir da copolimerização de acrilamida, N-isopropilacrilamida e Metacrilato de sódio**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 95. 2010.

RAI, M. Nanobiotecnologia verde: biossíntese de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. **Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 1-5, 2013.

RANA, V. et al. Chitosan-Chondroitin Composite Films: Comparative with In Vitro Skin permeation data of hydrophilic and lipophilic drugs. **Journal of Pharmaceutics Research**, v. 6, n. 4, p. 231-242, 2007.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S. Synthetic Hydrogel for Biomedical Applications. **Hydrogels for Medical and related applications**, 1 junho 1976. 1-36.

RECIFE, A. C. D. **Amido retrogradado como excipiente de comprimidos para liberação controlada de fármacos: obtenção e caracterização**. Universidade estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. Araraquara, p. 116. 2013.

REDDY, T. T.; TAKAHARA, A. Simultaneous and sequential micro-porous semi-interpenetrating polymer network hydrogel films for drug delivery and wound dressing applications. **Polymer**, v. 50, p. 3537-3546, 2009.

REIS, A. V. **Aplicações de goma arábica modificada no desenvolvimento de hidrogéis para uso como dispositivos de liberação modificada de fármaco**. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, p. 145. 2007.

- REIS, D. C. N. S. P. **Importância do estudo da área superficial específica e porosidade do estearato de magnésio para o setor farmacêutico**. Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz. Rio de Janeiro, p. 71. 2013.
- REUMATÓIDE, A. Viva bem com artrite. **Artrite Reumatóide**, 2016. Disponível em: <<http://www.artritereumatoide.com.br/viva-bem-com-ar>>. Acesso em: 27 setembro 2016.
- REZENDE, M. U.; GOBBI, R. G. Tratamento Medicamentosa da Osteoartrose do joelho. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 44, n. 1, p. 14-19, 2009.
- RIBEIRO, A. R. et al. Correlations between the biochemistry and mechanical states of a sea-urchin ligament: a mutable collagenous structure. **Biointerphases**, v. 7, p. 1-15, 2012.
- RIMMER, S. et al. Highly branched poly-(N-isopropylacrylamide)s with arginine–glycine–aspartic acid (RGD)- or COOH-chain ends that form sub-micron stimulus-responsive particles above the critical solution temperature. **The Royal Society of Chemistry**, v. 3, p. 971-973, 2007.
- RISKIN, M.; TEL-VERED, R.; WILLNER, I. Thermo-Switchable Charge Transport and Electrocatalysis Using Metal-Ion-Modified pNIPAM Functionalized Electrodes. **Advanced Functional Materials**, v. 19, p. 2474-2480, 2009.
- RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release. **Journal of Controlled Release**, 1987. 23-36.
- ROSIK, J. M.; YOSHII, F. Hydrogels and their medical applications. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research**, v. 151, p. 56-64, 1999.
- ROY, D.; CAMBRE, J.; SUMERLIN, B. S. Future perspectives and recent advances in stimuli-responsive materials. **Progress in Polymer Science**, v. 35, p. 278-301, 2010.
- SAARAKKALA, S.; RIEPPO, L.; JURVELIN, J. S. Fourier Transform Infrared (FTIR) microscopy of immature, mature and degenerated articular cartilage. **Microscopy: Science, Technology, Applications and Education**, p. 403-414, 2010.
- SÁEZ, V.; HERNÁEZ, E.; ANGULO, L. S. Liberación controlada de fármacos. Hidrogeles. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 4, n. 1, p. 21-91, 2003.
- SALOME, C.; GODSWILL, O.; IKECHUKWU, O. Kinetics and mechanisms of drug release from swellable and non swellable matrices: a review. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 97-103, 2013.
- SANA, S. S. et al. Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Grewia flaviscences* and study of their antimicrobial activity. **Materials Letters**, v. 145, p. 347-350, 2015.
- SANCHES, S. C. D. C. **Caracterização físico-química e avaliação toxicológica preliminar do copolímero Sulfato de Condroitina-co-N-isopropilacrilamida para uso farmacêutico**. Universidade Federal do Pará. Belém, p. 173. 2013.

SANTOS JR, A. R.; WADA, M. L. F. Polímeros Biorreabsorvíveis como substrato para cultura de células e Engenharia Tecidual. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 17, n. 4, p. 308-317, 2007.

SANTOS, E. T. **Inserção de nanopartículas metálicas em resina epóxi: estudos espectroscópicos**. Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, p. 81. 2011.

SAÚDE, M. C. Remédio que ajuda a combater as dores causadas pela artrite. **Melhor com Saúde**, 2016. Disponível em: <<http://melhorcomsaude.com/remedio-combater-as-dores-causadas-pela-artrite/>>. Acesso em: 27 setembro 2016.

SCHOTT, H. Kinetics of Swelling of Polymers and Their Gels. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, p. 467-470, junho 1991.

SEDA, H.; SEDA, A. C. Sociedade Brasileira de Reumatologia. **As Principais Doenças & Orientações ao Paciente**, 2008. Disponível em: <[http://www.reumatologia.com.br/index.asp?Perfil=&Menu=DoencasOrientacoes&Pagina=reumatologia/in\\_doencas\\_e\\_orientacoes\\_resultados.asp](http://www.reumatologia.com.br/index.asp?Perfil=&Menu=DoencasOrientacoes&Pagina=reumatologia/in_doencas_e_orientacoes_resultados.asp)>. Acesso em: 06 agosto 2015.

SEEFELDT, A. T. **Síntese e Caracterização de hidrogéis híbridos termo e pH sensíveis, baseados em Acrilamida, APMA e Nipam**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 86. 2014.

SEN, I. K. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using glucan from mushroom and study of antibacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 62, p. 439-449, 2013.

SHARMA, B. et al. Human Cartilage Repair with a photoreactive adhesive-hydrogel composite. **Science Translational Medicine**, v. 5, n. 167, p. 1-11, 2013.

SIEGEL, R. A. Stimuli sensitive polymers and self regulated drug delivery systems: A very partial review. **Journal of Controlled Release**, v. 190, p. 337-351, 2014.

SILVA, F. P. **Síntese e Caracterização de Hidrogéis de Poli[(N-isopropilacrilamida)-co-(Ácido Metacrílico)] e sua aplicação como sistemas de liberação controlada de medicamentos**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 174. 2006.

SILVA, M. D. F. G. Voltametria Cíclica — Aplicações ao Estudo de Mecanismos de reações induzidas por transferencia eletrônica. **Sociedade Portuguesa de Química**, 1998. Disponível em: <<http://www.spq.pt/magazines/BSPQ/594/article/3000848/pdf>>. Acesso em: 08 novembro 2015.

SIMÕES, F. R. **Desenvolvimento e caracterização de materiais de eletrodos modificados com polímeros condutores para a determinação eletroanalítica de pesticidas**. Universidade de São Paulo. São Carlos, p. 163. 2005.

SINGH, D.; RAWAT, D. Microwave assisted synthesis of silver nanoparticles from Origanum majorana and Citrus sinensis leaf and their antibacterial activity: a green chemistry approach. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 3, p. 14-20, 2016.

- SINGKA, G. S. L. et al. Enhanced topical delivery and anti-inflammatory activity of methotrexate from an activated nanogel. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 76, p. 275-281, 2010.
- SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª edição. ed. [S.l.]: Cengage Learning, 2006.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, J. F. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. ed. [S.l.]: Bookman Companhia ED, 2009.
- SONG, S.; HU, N. On-off switchable bioelectrocatalysis synergistically controlled by temperature and Sodium Sulfate concentration based on Poly(N-isopropylacrylamide) films. **Journal of Physics and Chemistry B**, v. 114, p. 5940-5945, 2010.
- SOUSA, A. D. **Híbridos de Gel Polimérico em Sílica Mesoporosa Estruturalmente Ordenada para Liberação Controlada de Fármacos**. Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG. Belo Horizonte, p. 175. 2009.
- SOUSA, R. G. et al. Dependence of copolymer composition, swelling history, and drug concentration on the loading of diltiazem hydrochloride (DIL.HCl) into poly[(N-isopropylacrylamide)-co-(methacrylic acid)] hydrogels and its release behaviour from hydrogel slabs. **Journal of Controlled Release**, v. 102, p. 595-606, 2005.
- SOUZA, D. S.; MEDRADO, L.; GITIRANA, L. D. B. Histologia. **Escola Politécnica de saúde Joaquim Venâncio**. Disponível em: <[http://www.epsjv.fiocruz.br/upload/d/capitulo\\_2\\_vol2.pdf](http://www.epsjv.fiocruz.br/upload/d/capitulo_2_vol2.pdf)>. Acesso em: 08 novembro 2015.
- SOUZA, P. H. M. **Estudos eletroquímicos de complexos de Cu(II) de antibióticos da classe das fluorquinolonas**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 119. 2011.
- SPÓSITO, A. L. **Técnicas de reparo de cartilagem no joelho**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 92. 2009.
- SU, X. et al. Functionalization of multi walled carbon nanotubes with thermoresponsive azide terminated Poly(N-isopropylacrylamide) via click reactions. **Molecules**, v. 18, p. 4599-4612, 2013.
- SUN, B.; LIN, Y.; WU, P. Structure Analysis of Poly(N-isopropylacrylamide) Using Near-Infrared Spectroscopy and Generalized Two-Dimensional Correlation Infrared Spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v. 61, n. 7, p. 765-771, 2007.
- SUZUKI, A.; TANAKA, T., 1991. 345.
- TADROS, M. I.; FAHMY, R. H. Controlled release triple antiinflammatory therapy based on novel gastroretentive sponges: characterization and magnetic resonance imaging in healthy volunteers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 472, p. 27-39, 2014.
- TAN, H.; MARRA, K. G. Injectable, biodegradable hydrogels for tissue engineering applications. **Materials**, v. 3, p. 1746-1767, 2010.

- TASDELEN, B. et al. Anticancer drug release from Poly(N-isopropylacrylamide)/itaconic acid) copolymeric hydrogels. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 73, p. 340-345, 2005.
- TATARCHUK, V. V. et al. Kinetic factors in the synthesis of silver nanoparticles by reduction of Ag<sup>+</sup> with hydrazine in reverse micelles of Triton N-42. **Chemistry of Materials**, v. 25, p. 3570-3579, 2013.
- THIPMONTA, N. **Thermally sensitive conducting hydrogels**. Universidade de Wollongong. [S.l.], p. 259. 2013.
- TICIANELLI, E. A.; GONZALEZ, E. R. **Eletroquímica: Princípios e aplicações**. 2ª Edição. ed. [S.l.]: Editora Edusp, 2013.
- TOLEDO, M. **Interpreting DSC curves**. USERCOM. [S.l.], p. 28. 2000.
- TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Corpo Humano - Fundamentos de anatomia e fisiologia**. 8ª Edição. ed. [S.l.]: Artmed Editora Ltda, 2012.
- TWAITES, B. R. et al. Thermoresponsive polymers as gene delivery vectors: Cell viability, DNA transport and transfection studies, v. 108, p. 472-483, 2005.
- UFJF. Métodos Eletroanalíticos. **Voltametria Cíclica**, 2007. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/nupis/files/2011/07/Voltametria.pdf>>. Acesso em: 08 novembro 2015.
- VARGHESE, J. M. et al. Thermoresponsive hydrogels based on poly(N-isopropylacrylamide)/chondroitin sulfate. **Sensors and Actuators**, v. 135, p. 336-341, 2008.
- VASIREDDY, R.; PAUL, R.; MITRA, A. K. Green Synthesis of silver nanoparticles and the study of optical properties. **Nanomaterials and nanotechnology**, v. 2, p. 1-6, 2012.
- VIEIRA, N. A. B. **Síntese, Caracterização e Estudos em Solução de Terpolímeros Anfifílicos Termossensíveis e Sensíveis ao pH: Uma Perspectiva para Obtenção de Sistemas Transportadores de Fármacos**. Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, p. 139. 2006.
- VIEIRA, N. T. et al. Efeitos dos glicosaminoglicanos e sulfato de condroitina A sobre a cartilagem articular normal e com doença articular degenerativa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 5, p. 1117-1127, 2010.
- VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.
- VIVEKANANDHAN, S. et al. Green process for impregnation of silver nanoparticles into microcrystalline cellulose and their antimicrobial bionanocomposite films. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 3, p. 371-376, 2012.
- WANG, D.-A. et al. Multifunctional chondroitin sulphate for cartilage tissue-biomaterial integration. **Nature**, v. 6, p. 385-392, 2007.

- WANG, G.-F. et al. Amperometric sensor used for determination of Thiocyanate with a silver nanoparticles modified electrode. **Sensors**, v. 4, p. 147-155, 2004.
- WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. 2ª Edição. ed. [S.l.]: Wiley, 2000.
- WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. 2ª Edição. ed. [S.l.]: Wiley & Sons, Inc, 2000.
- WANG, J.; WU, W.; LIN, Z. Kinetics and thermodynamics of the water sorption of 2-Hydroxyethyl methacrylate /Styrene copolymer Hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 109, p. 3018-3023, 2008.
- WANG, L. et al. Thermal-sensitive starch-g-pnlpam prepared by Cu(O) catalyzed SET-LRP at molecular level. **Royal Society of Chemistry**, v. 5, p. 70758-70765, 2015.
- WANG, L.-F.; SHEN, S.-S.; LU, S.-C. Synthesis and characterization of chondroitin sulfate-methacrylate hydrogels. **Carbohydrate polymers**, v. 52, p. 389-396, 2003.
- WANG, L.-S. et al. Synthesis and anti-fungal effect of silver nanoparticles - chitosan composite particles. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 2685-2696, 2015.
- WEI, H. et al. Self-assembled thermoresponsive micelles of poly(N-isopropylacrylamide-b-methyl methacrylate). **Biomaterials**, v. 27, p. 2028-2034, 2006.
- WILTSEY, C. et al. Characterization of injectable hydrogels based on poly(N-isopropylacrylamide)-g-chondroitin sulfate with adhesive properties for nucleus pulposus tissue engineering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 24, p. 837-847, 2013.
- WLODARCZYK-STASIAK, M.; JAMROZ, J. Specific surface area and porosity of starch extrudates determined from nitrogen adsorption data. **Journal of Food Engineering**, v. 93, n. 4, p. 379-385, 2009.
- WONG, J. E. et al. Dual-stimuli responsive PNIPAM microgel achieved via layer-by-layer assembly: Magnetic and thermoresponsive. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 324, p. 47-54, 2008.
- YASMEEN, S. et al. Injectable scaffolds for bone regeneration. **Langmuir**, v. 30, p. 12977-12985, 2014.
- YIN, Z. et al. Thermosensitive behavior of Poly(N-isopropylacrylamide) and release of incorporated hemoglobin. **Journal of Physical Chemistry**, v. 113, p. 16104-16109, 2009.
- ZARZYKA, I.; PYDA, M.; DI LORENZO, M. L. Influence of crosslinker and ionic comonomer concentration on glass transition and demixing/mixing transition of copolymers poly(N-isopropylacrylamide) and poly(sodium acrylate) hydrogels. **Colloids and Polymers Science**, v. 292, p. 485-492, 2014.
- ZHANG, J.-T.; HUANG, S.-W.; ZHUO, R.-X. Temperature-Sensitive Polyamidoamine dendrimer/Poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels with improved responsive properties. **Macromolecular Bioscience**, v. 4, p. 575-578, 2004.

- ZHANG, L. et al. A novel thermothickening aqueous system prepared from hydrophobically-modified acrylamide copolymer, Poly(N-isopropylacrylamide) and sodium dodecyl benzene sulfonate and its mechanism studies. **Journal of Macromolecular Science Part A: Pure and Applied Chemistry**, v. 46, p. 796-801, 2009.
- ZHANG, Q. et al. Effects of hectorite content on the temperature-sensitivity of PNIPAM microgels. **European Polymer Journal**, v. 44, p. 1358-1367, 2008.
- ZHANG, X.-Z.; YANG, Y.-Y.; CHUNG, T.-S. Effect of mixed solvents on characteristics of Poly(N-isopropylacrylamide) gels. **Langmuir**, 18, 2002.
- ZHANG, Y.; CREMER, P. S. Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 10, n. 6, p. 658-663, 2006.
- ZHAO, Z. X. et al. Swelling/deswelling kinetics of PNIPAAm hydrogels synthesized by microwave irradiation. **Chemical Engineering Journal**, v. 142, p. 263-270, 2008.
- ZHOU, J. et al. Temperature, ionic strength and pH induced electrochemical switching of smart polymer interfaces. **Chemical Communications**, p. 4820-4822, 2006.
- ZHOU, J. et al. Poly(N-isopropylacrylamide) interfaces with dissimilar thermo-responsive behavior for controlling ion permeation and immobilization. **Advanced Functional Materials**, v. 17, p. 3377-3382, 2007.
- ZHU, S. et al. Thermo-responsive polymer-functionalized mesoporous carbon for controlled drug release. **Materials Chemistry and Physics**, v. 126, p. 357-363, 2011.
- ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. **Polymer Testing**, v. 23, p. 575-579, 2004.
- ZOPPE, J. O. et al. Poly(N-isopropylacrylamide) Brushes Grafted from Cellulose Nanocrystals via Surface-Initiated Single-Electron Transfer Living Radical Polymerization. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 10, p. 2683-2691, 2010.