

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MATERIAS PARA ENGENHARIA**

**Síntese e caracterização de hidrogéis termossensíveis baseados em
Poli (*N*-isopropilacrilamida)**

Charlene Aparecida Ribeiro

Itajubá, setembro de 2012

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

Charlene Aparecida Ribeiro

**Síntese e caracterização de Hidrogéis termossensíveis
baseados em Poli (N-isopropilacrilamida)**

**Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Materiais para Engenharia como parte dos requisitos
para obtenção do Título de Mestre em Ciências em
Materiais para Engenharia.**

Área de Concentração: Não Metais

Orientadora: Prof^a. Dra Maria Elena Leyva Gonzalez

**Setembro de 2012
Itajubá**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Mauá –
Bibliotecária Margareth Ribeiro- CRB_6/1700

R354s

Ribeiro, Charlene Aparecida

Síntese e Caracterização de Hidrogéis Termossensíveis baseados em Poli(N-isopropilacrilamida) / Charlene Aparecida Ribeiro.
-- Itajubá, (MG) : [s.n.], 2012.

118 p. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Elena Leyva Gonzalez.

Coorientador: Prof. Dr. Alvaro Antonio Alencar de Queiroz.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá.

1. Hidrogéis. 2. Termossensíveis. 3. Poli(N-isopropilacrilamida)PNIPAm. I. Gonzalez, Maria Elena Leyva, orient. II. Queiroz, Alvaro Antonio Alencar de, coorient. III. Universidade Federal de Itajubá. IV. Título.

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

Charlene Aparecida Ribeiro

**Síntese e caracterização de Hidrogéis termossensíveis
baseados em Poli (*N*-isopropilacrilamida)**

Dissertação aprovada por banca examinadora em 17 de
setembro de 2012, conferindo ao autor o título de **Mestre em
Ciências em Materiais para Engenharia.**

Banca Examinadora:

Prof. Dra Maria Elena Leyva Gonzalez (Orientadora)

Prof..Dra Bluma Guenter Soares

Prof.Dr Mauricio Silva dos Santos

**Itajubá
2012**

Dedicatória

Dedico este trabalho àquela que hoje ilumina meus dias e noites: minha filha Giovana.

Ao minha família e ao Junior, pelo total apoio, compreensão, paciência e amor.

Agradecimentos

A Deus, pelas bênçãos diárias.

A minha filha Giovana, o maior presente de Deus em minha vida e que a cada sorriso me dá incontáveis razões para seguir em frente e que hoje é a razão de todo meu esforço.

Aos meus pais e irmãos, pelo intenso apoio e ajuda em todos os momentos, decisões e necessidades.

Ao meu companheiro Junior por todos os momentos, compreensão e apoio.

A minha orientadora, prof Maria Elena, sem a qual nada seria possível. Pessoa única no mundo, sempre amável, positiva e perseverante. Agradeço por todos os momentos, compreensão, paciência e apoio total.

A todos os professores, em especial o prof Álvaro, pela compreensão e preocupação. Ao prof. Élcio Barrak pelas caracterizações térmicas e a todos os professores e funcionários do Biomateriais.

Aos amigos Isabel, Lucimara, Paula, Lidiane, Vania, Catarine, Glauber, André, Vinícius, Mateus, por todos os momentos de descontração e estudo.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN e a Universidade Presbiteriana Mackenzie pela contribuição nas caracterizações.

A todos que, de forma ou outra, torceram por mim.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
ÍNDICE DE ABREVIACÕES	XIII
RESUMO	XV
ABSTRACT	XVI
PRODUÇÃO CIENTÍFICA	XVII
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 POLÍMEROS	3
2.2 BIOMATERIAIS	6
2.3 HIDROGÉIS	7
2.3.1 <i>HIDROGÉIS TERMOSENSÍVEIS</i>	8
2.4 HIDROGÉIS NA REPARAÇÃO DA CARTILAGEM ARTICULAR	11
2.5 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE DROGAS	12
2.6 POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA) - PNIPAM	15
2.7 HIDROXIAPATITA (HAP)	19
2.8 COMPÓSITOS POLÍMERO-HIDROXIAPATITA	21
2.9 SÍNTESE ELETROINICIADA	23
2.10 CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
3. OBJETIVOS	27
3.1 OBJETIVO GERAL	27
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3.2.1 <i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS PARA HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel^{se})</i>	27
3.2.2 <i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS PARA OS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS PNIPAm/HAP (Hgel^{sq}):</i> 28	
4. MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 MATERIAIS	28
4.1.1 <i>MATERIAIS UTILIZADOS NA SÍNTESE DOS HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel^{se})</i>	28
4.1.2 <i>MATERIAIS UTILIZADOS NA SÍNTESE DOS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS DE PNIPAm/HAP (Hgel^{sq})</i>	30
4.2 MÉTODOS DE SÍNTESE	31
4.2.1 <i>SÍNTESE DOS HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel^{se})</i>	31
4.2.2 <i>SÍNTESE DOS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS PNIPAm/HAP (Hgel^{sq})</i>	33
4.3 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO	34

4.3.1	CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel ^{SE}).....	34
4.3.2	CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS PNIPAm/HAP (Hgel ^{sq}):.....	36
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
5.1	HIDROGÉIS PNIPAM (HGEL ^{SE}).....	40
5.1.1	DETERMINAÇÃO DO PESO MOLECULAR.....	40
5.1.2	CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA (FTIR).....	45
5.1.3	ANÁLISE TÉRMICA.....	59
5.1.4	MEDIDAS DE TRANSMITÂNCIA.....	62
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS DE PNIPAM/HAP (H _{GEL} ^{sq}).....	65
5.2.1	CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA (FTIR).....	65
5.2.2	TERMOGRAVIMETRIA (TGA).....	67
5.2.3	ANÁLISE DA DENSIDADE EM MATERIAIS POROSOS POR ARQUIMEDES.....	68
5.2.4	ANÁLISE DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DOS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS (Hgel ^{sq}).....	71
5.2.5	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	72
5.2.6	ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO.....	76
5.2.7	ESTUDOS DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO (AAS).....	85
6.	CONCLUSÕES.....	92
6.1	CONCLUSÕES SOBRE HIDROGÉIS PNIPAM (HGEL ^{SE}).....	92
6.2	CONCLUSÕES SOBRE BIOCAMPÓSITOS PNIPAM/HAP(HGEL ^{sq}).....	92
7.	PERSPECTIVAS.....	94
8.	BIBLIOGRAFIA.....	95

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Composição geral das apatitas – possibilidades para os índices M, ZO e X	19
Tabela 2: Volume das soluções utilizadas na síntese dos hidrogéis PNIPAm (Hgel ^{se})	31
Tabela 3: Concentração e médias dos tempos para as soluções de PNIPAm em água.	41
Tabela 4: Viscosidades relativa, específica e reduzida para as amostras de PNIPAm em água.	42
Tabela 5: Valores do peso molecular médio para o PNIPAm em água, segundo valores diferentes das constantes.	43
Tabela 6: Valores do peso molecular e índice de polidispersão da fração solúvel dos hidrogéis.....	43
Tabela 7: Assinalamento das bandas características do PNIPAm encontradas na literatura e experimentalmente	49
Tabela 8: Determinação da razão entre as áreas das bandas 1638 cm^{-1} e 878 cm^{-1} (ou 883 cm^{-1}) representadas nas Figuras 5-11 e 5-12.	58
Tabela 9: Valores da Tg para os hidrogéis Hgel ^{se} obtidos	61
Tabela 10: Assinalamento das regiões de perda de massa registradas na curva de TGA.....	68
Tabela 11: Valores da densidade para o hidrogel Hgelsq0 e para os biocompósitos Hgel ^{sq} -HAP30, Hgel ^{sq} -HAP50 e Hgel ^{sq} -HAP60	69
Tabela 12: Valores do coeficiente difusional n (RITGER e PEPPAS, 1987)	77
Tabela 13: Valores das constantes n, K e D para os hidrogéis Hgel ^{sq} a 25 e 40°C. ...	80
Tabela 14: Valores das constantes n, k e D para os hidrogéis imersos nas soluções de AAS 0,005, 0,01 e 0,02 mol L ⁻¹	85
Tabela 15: Valores das constantes n, K e D para as amostras A, B e C imersas em solução aquosa.	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2-1: Classificação dos polímeros quanto à forma molecular fixada pelas ligações químicas: a) linear, b) ramificada tipo A, c) ramificada tipo B, d) ramificado tipo C e e) reticulada	4
Figura 2-2: Representação do homopolímero e dos tipos de copolímeros.	6
Figura 2-3: Diagrama de fases para os sistemas UCST a) e LCST b) [Adaptado de (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001)]	9
Figura 2-4: Esquema representativo da transição de fase de um hidrogel termossensível. A baixas temperaturas (esquerda) a rede é considerada hidrofílica, absorvendo grandes quantidades de água e a altas temperaturas (direita), a rede torna-se hidrofóbica, expulsando da rede as moléculas de água. Fonte: (DIMITROV, TRZEBICKA, <i>et al.</i> , 2007)	10
Figura 2-5: Comparação entre a quantidade de fármaco liberada com o tempo a) sistema convencional e b) sistema de liberação controlada. [Adaptado de (MOURA, 2005)	14
Figura 2-6: Representação da estrutura química do monômero NIPAm	15
Figura 2-7: Representação da estrutura química do polímero PNIPAm	16
Figura 2-8: a) Ilustração das nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro revestidas com PNIPAm. b) Em solução do fármaco Doxorrubicina e c) fármaco inserido no revestimento de PNIPAm. (Adaptado de (DEKA, QUARTA, <i>et al.</i> , 2011).	18
Figura 2-9: Aplicações da HAP no corpo humano. [Adaptado de (PIRES, 2010)]	21
Figura 2-10: Célula eletroquímica de 3 eletrodos	24
Figura 4-1: Potenciostato/Galvanostato Omnimetra utilizado neste trabalho	30
Figura 4-2: Célula eletroquímica utilizada neste trabalho	32
Figura 4-3: PNIPAm precipitando após a síntese	32
Figura 4-4: Reação química do par redox APS e TEMED	33
Figura 5-1: Viscosidade reduzida em função da concentração para o PNIPAm em água	42
Figura 5-2: Curvas de distribuição do peso molecular a) Hgel ^{se0} ; b) Hgel ^{se1} ; c) Hgel ^{se2} e d) Hgel ^{se3}	45

Figura 5-3: FTIR do monômero NIPAm. Em destaque, banda em 1620cm^{-1} , relativa à ligação C=C.....	46
Figura 5-4: FTIR da amostra Hgel ^{se} 0	47
Figura 5-5: FTIR do homopolímero Hgelse0 – Assinalamentos das bandas características do PNIPAm.....	48
Figura 5-6: FTIR dos hidrogéis de PNIPAm obtidos.....	50
Figura 5-7: Espectro FTIR dos hidrogéis obtidos a) de 2500 a 3500cm^{-1} ; b) de 1400 a 2000cm^{-1} ; c) de 1000 a 1500cm^{-1} e d) 820 a 900cm^{-1}	53
Figura 5-8: Áreas da banda relativa à vibração da ligação Amida I (em 1638cm^{-1}) para os hidrogéis.....	57
Figura 5-9: Área da banda relativa a vibração da ligação isopropil dos hidrogéis.....	58
Figura 5-10: Curva TGA para o hidrogel Hgel ^{se} 0.	59
Figura 5-11: Curvas DSC para os hidrogéis Hgel ^{se} obtidos	60
Figura 5-12: Relação entre a Tg dos hidrogéis e a razão molar MBAAm/PNIPAm. Em destaque a estrutura química dos hidrogéis obtidos	62
Figura 5-13: LCST dos hidrogéis Hgel ^{se} obtidos	63
Figura 5-14: Espectro FTIR comparativo do Hgel ^{sq} 0, e dos biocompósitos Hgel ^{sq} -HAP30, Hgel ^{sq} -HAP50, Hgel ^{sq} -HAP60, na faixa de 4000 até 2700cm^{-1}	65
Figura 5-15: Espectro FTIR-ATR comparativo do Hgel ^{sq} 0, e dos biocompósitos Hgel ^{sq} -HAP30, Hgel ^{sq} -HAP50, Hgel ^{sq} -HAP60, na faixa de 1800 até 700cm^{-1}	66
Figura 5-16: Curva de perda de massa em função da temperatura para o Hgel ^{sq} 0 e os biocompósitos Hgel ^{sq} -HAP30, Hgel ^{sq} -HAP50, Hgel ^{sq} -HAP60, na faixa de 25 a $800\text{ }^{\circ}\text{C}$	67
Figura 5-17: DRX da Hidroxiapatita comercial	71
Figura 5-18: DRX dos hidrogéis biocompósitos Hgel ^{sq} 0; Hgel ^{sq} -HAP30 e Hgel ^{sq} -HAP50.....	72
Figura 5-19: Micrografias da superfície de fratura do Hgel ^{sq} 0	73
Figura 5-20: Micrografias da superfície de fratura do Hgel ^{sq} -HAP30	73
Figura 5-21: Micrografias da superfície de fratura do Hgel ^{sq} -HAP50	74
Figura 5-22: Micrografias da superfície de fratura do Hgel ^{sq} -HAP60	74
Figura 5-23: Micrografias MEV das amostras intumescidas no equilíbrio	76
Figura 5-24: Hgel ^{sq} -HAP60 seca (esquerda) e após o intumescimento (direita)	78

Figura 5-25: Intumescimento no tempo do Hgel ^{sq} e dos biocompósitos Hgel ^{sq} -HAP30, Hgel ^{sq} -HAP 50 e Hgel ^{sq} -HAP60, em água destilada a 25 ⁰ C	78
Figura 5-26: Intumescimento no tempo do Hgel ^{sq} 0 e dos biocompósitos Hgel ^{sq} -HAP30, Hgel ^{sq} -HAP 50 e Hgel ^{sq} -HAP50, em água destilada a 40 ⁰ C	79
Figura 5-27: Intumescimento para o Hgel ^{sq} 0 em soluções de diferentes concentrações de AAS a) nos tempos iniciais e b) tempo total.	81
Figura 5-28: $\ln(M_t/M_{00})$ em função de $\ln t$ da Solução AAS 0,005 mol L ⁻¹	82
Figura 5-29: $\ln(M_t/M_{00})$ em função de $\ln t$ da Solução AAS 0,01 mol L ⁻¹	82
Figura 5-30: $\ln(M_t/M_{00})$ em função de $\ln t$ da Solução AAS 0,02 mol L ⁻¹	83
Figura 5-31: M_t/M_{00} em função de $t^{1/2}$ da Solução AAS 0,005 mol L ⁻¹	84
Figura 5-32: M_t/M_{00} em função de $t^{1/2}$ da Solução AAS 0,01 mol L ⁻¹	84
Figura 5-33: M_t/M_{00} em função de $t^{1/2}$ da Solução AAS 0,02 mol L ⁻¹	84
Figura 5-34: Curva de Calibração do AAS em água.	86
Figura 5-35: Liberação de AAS associada às amostras A, B e C	87
Figura 5-36: $\ln(M_t/M_{00})$ em função de $\ln t$ da Amostra A	88
Figura 5-37: $\ln(M_t/M_{00})$ em função de $\ln t$ da Amostra B	88
Figura 5-38: $\ln(M_t/M_{00})$ em função de $\ln t$ da Amostra C	89
Figura 5-39: M_t/M_{00} em função de $t^{1/2}$ da Amostra A	89
Figura 5-40: M_t/M_{00} em função de $t^{1/2}$ da Amostra B	90
Figura 5-41: M_t/M_{00} em função de $t^{1/2}$ da Amostra C	90

ÍNDICE DE ABREVIACÕES

AAS – Ácido Acetilsalicílico

APS – Persulfato de amônio

ATR – Refletância Total Atenuada

CDH – Sulfato de Hidroxilamina

DDS – Drug Delivery Systems

d_e – densidade experimental

DMAAm – Dimetilacrilamida

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DRX – Difração de Raios-X

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

d_t – densidade teórica

FTIR – Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier

GPC – Cromatografia de Permeação em Gel

HAP - Hidroxiapatita

IP – Índice de Polidispersão

IPEN- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

LCST – Lower Critical Solution Temperature

MA – Anidrido Maléico

MBAAm – N,N'-metileno(bis)acrilamida

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

M_n – Massa Molecular média em número

M_w – Massa Molecular média em peso

NIPAm – N-isopropilacrilamida

P(3HB) – Poli(3-hidroxiacetato)

P(DEAAm) – Poli(n,N-dietilacrilamida)

PA – Poliamida

PEAD – Polietileno de alta densidade

PHB – Poliidroxiacetato

PHEMA – Polietilmetacrilato

PLGA – Polímeros dos ácidos lático e glicólico.

PMMA – Polimetilmetacrilato

PNIPAm – Poli(n-isopropilacrilamida)

TEMED – N,N,N',N'-Tetrametiletenodiamina

Tg – Temperatura de transição vítrea

TGA - Termogravimetria

THF – Tetraidrofurano

THFMA – Tetraidrofurfuril metacrilato

UCST – Upper Critical Solution Temperatura

UV-Vis – Ultravioleta-Visível

η – Viscosidade

η_{esp} – Viscosidade específica

η_{red} – Viscosidade reduzida

η_{rel} – Viscosidade Relativa

RESUMO

RIBEIRO, C.A. *Síntese e caracterização de hidrogéis termossensíveis baseados em poli (N-isopropilacrilamida)*. 2012. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2012.

O polímero poli(N-isopropil acrilamida), PNIPAm, é um hidrogel que apresenta a característica de ser termossensível, apresentando uma transição hidrofílica- hidrofóbica a temperaturas próximas de 32°C, devido ao seu diagrama de fases tipo LCST (lower critical solution temperature). A hidroxiapatita, HAP, é uma biocerâmica pertencente ao grupo dos fosfatos de cálcio, sendo utilizada na recuperação da cartilagem articular por causa das suas propriedades de biocompatibilidade, osteocondutividade e bioatividade. O presente trabalho tem dois objetivos principais: o primeiro é a síntese eletro-iniciada, a temperatura ambiente, de hidrogéis químicos de PNIPAm e sua caracterização por FTIR, análises térmicas (TGA e DSC) e estudos de temperatura de transição de fases por medidas de Transmitância. O segundo objetivo é a síntese química de hidrogéis biocompósitos de PNIPAm e HAP e a posterior caracterização por FTIR, análise térmica por TGA, análise da densidade, Difração de Raios-x (DRX) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram feitos, ainda, estudos de intumescimento em solução aquosa e em solução do fármaco ácido acetil salicílico (AAS), bem como estudos de liberação do fármaco incorporado à matriz do hidrogel. Os resultados obtidos para os hidrogéis sintetizados eletroquimicamente revelam que o método utilizado mostra-se eficiente na polimerização de NIPAm, comprovado por FTIR, obtendo hidrogéis com características físico-químicas semelhantes aos reportados na literatura. As análises térmicas demonstram elevada estabilidade térmica e aumento da Tg com o aumento da quantidade de agente reticulante, enquanto a temperatura de transição LCST diminui. Para os biocompósitos formados, a análise de FTIR revela a existência de interações físicas entre o polímero e a HAP e a análise térmica por TGA demonstra que a HAP influencia ligeiramente na temperatura de degradação da cadeia polimérica. A análise estrutural por DRX revela a presença de uma fase amorfa e outra cristalina. A análise da densidade dos hidrogéis mostra que conforme aumento da quantidade de HAP há o aumento da densidade dos mesmos. As análises de MEV revelam elevada rugosidade e agregados de dimensão micrométrica, de cor branca, relativos à HAP, mostrando-se contínuos na matriz do hidrogel, o que significa boa compatibilidade com o PNIPAm. As análises MEV das amostras intumescidas mostram claramente a estrutura tridimensional formada e a existência de porosidade. Os estudos de intumescimento e liberação do fármaco mostram valores do coeficiente difusional inferiores a 0,5, o que sugere que o processo de intumescimento na rede polimérica independe da relaxação das cadeias.

ABSTRACT

RIBEIRO, C.A. *Synthesis and characterization of thermosensitive hydrogels based on poly (N-isopropylacrylamide).* 2012. Dissertation (MSc in Materials Engineering) - University of Itajubá, Itajubá, 2012.

Poly (N-isopropyl acrylamide), PNIPAm is a hydrogel which has the characteristic of being thermosensitive presenting a transition hydrophilic-hydrophobic at temperatures about 32° C due to its LCST (lower critical solution temperature) phase diagram. The hydroxyapatite HAP is a bioceramic belonging to the group of calcium phosphates, are used in the recovery of articular cartilage because of their properties of biocompatibility, osteoconductivity and bioactivity. This work has two main objectives: synthesis electro-initiate at room temperature of chemical PNIPAm hydrogels and their characterization by FTIR, thermal analysis (DSC and TGA) and studies of phase transition temperature by measurements of transmittance. The second objective is the chemical synthesis of PNIPAm hydrogels biocomposites and HAP and chemical-physic characterization by FTIR, TGA thermal analysis, density analysis, x-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). Studies of swelling in aqueous solution of the drug and acetyl salicylic acid (ASA) as well as studies of drug release from the matrix to the incorporated hydrogel were realized too. The results obtained for hydrogels synthesized electrochemically show that the method shows efficient in polymerizing PNIPAm. Obtained hydrogels with physicochemical characteristics similar to those reported in the literature confirmed by FTIR, DSC, TGA techniques. The thermal analysis showed a high thermal stability and an increase in Tg with increasing amounts of crosslinker, while the transition temperature LCST decreases. For biocomposites FTIR analysis revealed the existence of physical interactions between the polymer and HAP. Thermal analysis shows that HAP influences lightly the degradation temperature. Structural analysis by XRD revealed the presence of an amorphous phase and another crystalline. The density analysis shows that the hydrogels increased as the amount of HAP's increasing the density thereof. The SEM analyzes showed high roughness and micrometer-sized aggregates, white, relative to HAP, being continuous in the hydrogel matrix, which means good compatibility with the PNIPAm. SEM analysis of the samples swollen clearly show the three dimensional structure formed, and the existence of porosity. Studies of swelling and drug release show diffusional coefficient values below 0.5, suggesting that the process of swelling in polymer network independent of relaxation of chains.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Apresentados

XXXII CBRAVIC - Congresso Brasileiro de Aplicações do Vácuo na Indústria e na Ciência, 26 a 31 de agosto de 2011, Itajubá, MG. "ELETROSÍNTESE ORGÂNICA DE HIDROGÉIS QUÍMICOS TERMOSENSÍVEIS", Charlene A. Ribeiro; Maria E. Leyva; Alvaro A A de Queiroz.

VII COLAOB – Congresso Latino Americano de Órgão Artificiais e Biomateriais, de 22 a 25 de agosto de 2012, Natal, RN. "SÍNTESE ELETRO-INICIADA E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS TERMOSENSÍVEIS DE POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA)"; Charlene Ap. Ribeiro, Maria E.Leyva, Álvaro A.A. de Queiroz.

XI ENCONTRO DA SBPMAT – Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais, setembro de 2012, Florianópolis, SC. "SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF THERMOSENSITIVE HYDROGELS BASED ON POLY(N-ISOPROPYLACRYLAMIDE) - (PNIPAm)"; Charlene Ap. Ribeiro, Maria E.Leyva, Álvaro A.A. de Queiroz.

CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS – CBECIMAT, novembro de 2012, Joinville, SC. "SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS TERMOSENSÍVEIS BASEADOS EM POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA) (PNIPAm)"; Charlene Ap. Ribeiro, Maria E.Leyva, Álvaro A.A. de Queiroz.

1. INTRODUÇÃO

A quase totalidade das pesquisas científicas tem como objetivo principal o desenvolvimento de meios de melhora da qualidade de vida de todos. Nesse sentido, os biomateriais têm sido foco de inúmeros trabalhos, o que tem como consequência o tratamento mais rápido e eficaz das enfermidades do corpo humano e, assim, o aumento da 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 materiais que compõem o biomaterial devem ser escolhidos de acordo com as aplicações finais a que se destina, dando atenção as suas propriedades físico-químicas. Os polímeros, em especial os hidrogéis, e as cerâmicas têm sido extensamente usados como biomateriais. Neste trabalho, escolhemos o Poli (N-isopropilacrilamida) (PNIPAm) e a Hidroxiapatita (HAP), um polímero e uma cerâmica, respectivamente, como objetos de estudo.

Os hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais capazes de reter/absorver quantidades significativas de água em sua estrutura, alguns chegando a absorver centenas de vezes a massa do polímero seco (ROSIAK e YOSHII, 1999), (SÁEZ, HERNÁEZ e ANGULO, 2003). Por suas propriedades de consistência flexível em água, permeabilidade e a alta capacidade de absorver e trocar fluidos com os organismos são a classe polimérica mais pesquisada e utilizada como biomateriais (NAIR e LAURENCIN, 2006).

O PNIPAm é um dos polímeros mais utilizados na formação de hidrogéis, pois possui a característica de ser termossensível, respondendo a estímulos de variação de temperatura. O PNIPAm possui transição de fases em temperaturas próximas de 32°C e possui diagrama de fases tipo LCST (*Lower Critical Solution Temperature*). É um polímero com grandes aplicações na composição de dispositivos de liberação de fármacos e de biocompósitos, assim como em

processos de separação e imobilização de enzimas e proteínas, sensores biológicos, músculos artificiais, entre outras (DEKA, QUARTA, *et al.*, 2011).

A Hidroxiapatita é uma biocerâmica da família dos fosfatos de cálcio, que possui destaque entre os biomateriais, apresentando boa biocompatibilidade e alta resistência à compressão, além das propriedades de osteointegração, osteocondutividade e bioatividade. A HAP vem sendo empregada na formação de compósitos com polímeros, formando biomateriais promissores, utilizados na recuperação de ossos, revestimento de próteses e recuperação de lesões de cartilagem articular (DUARTE, BORGES, *et al.*, 2006).

Neste trabalho, propomos a síntese e caracterização de dois tipos de hidrogéis, baseados em Poli (N-isopropilacrilamida). O primeiro hidrogéis de PNIPAm sintetizados através do método eletroiniciado, método ainda não encontrado na literatura para polimerização do monômero NIPAm. As caracterizações permitiram avaliar a eficácia do método utilizado, bem como a formação de hidrogéis com propriedades físico-químicas semelhantes às reportadas na literatura. Seguidamente, foram sintetizados hidrogéis biocompósitos de PNIPAm e HAP, por polimerização radicalar iniciada via reação.

Este trabalho está estruturado em 7 (sete) capítulos. O segundo capítulo apresenta a revisão bibliográfica que fundamenta todo o trabalho, abordando os principais temas acerca deste: breve descrição e definição dos polímeros e suas classificações; os biomateriais e propriedades; os hidrogéis, hidrogéis termosensíveis e o seu uso na reparação da cartilagem articular e em sistemas de liberação controlada de fármacos; o PNIPAm e a HAP e, por fim, uma breve descrição do método eletroiniciado utilizado. O capítulo 3 apresenta os objetivos gerais e específicos deste trabalho. O capítulo 4 descreve materiais e métodos utilizados no desenvolvimento do trabalho proposto. Resultados e discussões são descritos no capítulo 5. Por fim, os capítulos 6 e 7 apresentam as conclusões obtidas e as perspectivas para trabalhos futuros, respectivamente. A apresentação das referências bibliográficas utilizadas encerra este trabalho.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 POLÍMEROS

Polímeros são materiais de origem natural ou sintética, formados a partir da repetição de pequenas unidades estruturais (monômeros), ligados entre si covalentemente, chamados de *meros* na cadeia polimérica. De acordo com a IUPAC, polímero pode ser definido como: “Substância composta de átomos ou grupo de átomos (unidades de repetição ou monômeros) interligados entre si em quantidades suficientes para desenvolver um conjunto de propriedades que não varie significativamente com a adição de uma ou mais unidades de repetição” (SILVA, 2006).

Os polímeros naturais, utilizados pelo homem desde os tempos pré-históricos, são produzidos em sínteses biológicas e estão presentes na biosfera, sendo que quase toda substância vegetal ou animal apresenta uma estrutura polimérica complexa. Exemplos de polímeros naturais são DNA, as proteínas, o amido, a celulosa e a borracha natural. Os polímeros sintéticos, por sua vez, começam a ser produzidos na segunda metade do século XIX, mas a fabricação torna-se intensa apenas no início do século XX. Por volta do ano 1930, inicia-se a produção industrial de polímeros acrílicos e da borracha sintética, dentre outros polímeros (LOPES, 2012). A partir de então, o interesse no uso destes materiais tornou-se crescente, tendo aplicações nas mais diversas áreas, entre elas a médica e a farmacêutica.

Os polímeros podem ser classificados quanto à forma como os meros se repetem ao longo da cadeia, o que pode modificar suas propriedades, podendo ser:

- ✓ Linear: quando os meros são ligados entre si formando uma entidade contínua, como um fio;

- ✓ Ramificada: quando possui pelo menos uma unidade monomérica completa “pendurada” na cadeia principal, podendo ter ramificações do tipo A (longas), do tipo B (curtas) e do tipo C (ramificações presentes nas ramificações, chamada de estrutura dendrítica);
- ✓ Reticulada: quando as unidades monoméricas são conectadas de forma tridimensional formando uma ou mais redes unidas.

As estruturas de polímeros lineares, ramificados e reticulados podem ser visualizadas na Figura 2-1. A formação de ligações cruzadas tem um grande efeito nas propriedades mecânicas dos materiais poliméricos. A insolubilidade desses materiais é uma característica dessa classe de polímeros e possui uma considerável expansão em certos solventes.

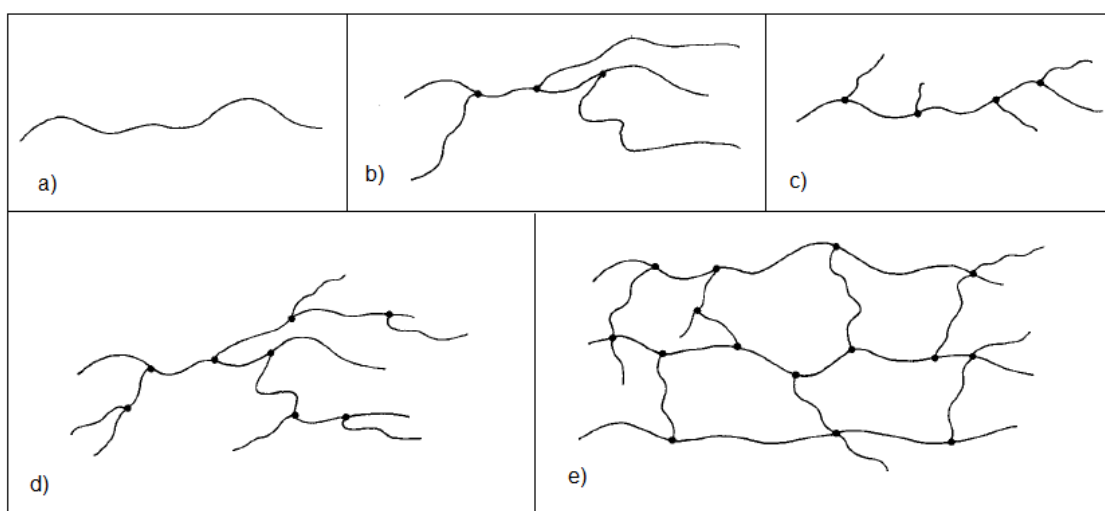


Figura 2-1: Classificação dos polímeros quanto à forma molecular fixada pelas ligações químicas:

a) linear, b) ramificada tipo A, c) ramificada tipo B, d) ramificado tipo C e e) reticulada

Carothers, em 1929, propôs a classificação dos polímeros quanto ao tipo de reação de polimerização em duas categorias: polímeros de condensação e de adição. Os polímeros de condensação são classificados como aqueles formados a partir de reações de condensação da química orgânica. São também conhecidos por polímeros de eliminação, pois a grande maioria dos polímeros de condensação eliminam pequenas moléculas, como água, ácido clorídrico ou

metanol. Contrariamente, o poliuretano, obtido por reação de condensação, não libera nenhuma molécula (FOGAÇA, 2012). Nos polímeros de adição a estrutura da unidade repetitiva é idêntica àquela do monômero. É utilizada para monômeros olefínicos (-C=C-), convertendo os monômeros em polímeros pela quebra da dupla ligação (AKCELRUD, 2007). Neste trabalho, o polímero PNIPAm é formado através do rompimento da dupla ligação entre carbonos, considerando-se assim um polímero de adição.

Os polímeros podem ser classificados quanto ao mecanismo de reação de polimerização, de acordo com proposta de Flory, em polimerização por etapas e polimerização em cadeia. Na primeira o monômero é consumido nos primeiros estágios da polimerização; a massa molar aumenta devido a combinação entre espécies presentes no meio reacional; não há estágio de terminação e todos os grupamentos terminais são reativos durante toda a reação. Na polimerização em cadeia o crescimento das cadeias ocorre por adições sucessivas de monômero a um centro ativo; o monômero é consumido lentamente e está presente em todo o curso da reação; existem mecanismos distintos operando durante a formação do polímero, sendo estes a iniciação, propagação e terminação (AKCELRUD, 2007).

A iniciação gera o crescimento da cadeia, sendo que o iniciador gera as espécies reativas. Os iniciadores mais usados são: peróxidos orgânicos e hidroperóxidos, compostos azo, sistemas redox, energia térmica ou luz. Na etapa de propagação os radicais gerados na iniciação reagem com os monômeros. A terminação pode ocorrer quando duas cadeias em crescimento reagem entre si, formando uma ou mais moléculas. Quando ocorre a formação de uma molécula, é denominada terminação por acoplamento e, quando ocorre a formação de duas moléculas, é denominada terminação por desproporcionamento (FILHO, 2005).

Quando apenas uma espécie de monômero está presente na estrutura do polímero, temos um homopolímero. A polimerização simultânea de dois ou mais monômeros denomina-se copolimerização, podendo formar diversas estruturas pela variação de monômeros e da quantidade destes. Os copolímeros podem ser alternados, em bloco ou randômicos. Os alternados são formados quando as unidades químicas diferentes estão dispostas de forma alternada, perfeitamente regular. O copolímero em bloco é formado por sequências de meros iguais de

comprimentos variáveis alternando-se ao longo da cadeia. Por fim, os copolímeros randômicos ou aleatórios são aqueles em que não há uma sequência definida de disposição dos meros. A Figura 2-2 ilustra o homopolímero e os tipos de copolímeros.

<p>-A-A-A-A-A-A-A-A-</p> <p>-B-B-B-B-B-B-B-B-</p> <p>Homopolímero</p>	<p>-A-B-A-B-A-B-A-B-</p> <p>Copolímero alternado</p>
<p>-A-A-A-B-B-B-A-A-</p> <p>Copolímero em bloco</p>	<p>-A-B-A-A-B-A-B-B-A-</p> <p>Copolímero randômico</p>

Figura 2-2: Representação do homopolímero e dos tipos de copolímeros.

2.2 BIOMATERIAIS

Desde muito tempo a preocupação maior do homem é o seu bem estar e sua saúde. O aumento da expectativa de vida, aliada a melhoria do nível e da qualidade da vida, tem sido alvo da maioria das pesquisas científicas. O objetivo principal destas pesquisas é desenvolver e produzir dispositivos capazes de oferecer tal melhora. Nesse sentido, os biomateriais vêm tendo atenção especial, dada suas propriedades.

Um biomaterial é definido como qualquer substância ou combinação delas, sintéticos ou naturais, que podem ser usados por qualquer período de tempo, como um todo ou parte de um sistema que trata, aumenta ou substitui qualquer tecido, órgão ou função do corpo (ROSIK e YOSHII, 1999). O biomaterial ideal, em termos de resposta biológica, deve ser biocompatível, ou seja, aquele que não causa a destruição de elementos celulares, proteínas e enzimas, nem cause

alteração plasmática, danos aos tecidos, câncer ou quaisquer reações alérgicas ou tóxicas (RATNER e HOFFMAN, 1976), (SANCHES, 2010).

Os biomateriais podem ser poliméricos, cerâmicos, metálicos ou uma combinação desses materiais, agregando as melhores propriedades de cada um. Polímeros biodegradáveis são mais vantajosos que outros, por não precisarem ser removidos posteriormente, requerendo processos cirúrgicos. De forma geral, biodegradável é um termo utilizado para polímeros e dispositivos sólidos que sofrem degradação macromolecular *in vivo*, sem a eliminação de produtos ou subprodutos pelo organismo. Polímeros biodegradáveis são afetados pelo ataque de elementos biológicos, perdendo sua integridade e formando fragmentos ou subprodutos de degradação, que podem ser removidos do seu local de ação (BARBANTI, ZAVAGLIA e DUEK, 2005). Os polímeros biodegradáveis mais utilizados são a Poli (ϵ -Caprolactona) e os copolímeros dos ácidos lático e glicólico (PLGA). (FIALHO e CUNHA JUNIOR, 2007).

A utilização dos biomateriais é vasta, principalmente na área da saúde. Os biomateriais mais utilizados e pesquisados nos últimos anos são os hidrogéis poliméricos devido a suas propriedades, tendo sido utilizados também na formação de compósitos, aliados a outros materiais, como as cerâmicas e os metais.

2.3 HIDROGÉIS

Um gel é um material polimérico capaz de inchar quando em contato com um solvente e reter quantidades significativas deste solvente em sua estrutura, sem se dissolver (RATNER e HOFFMAN, 1976). Um hidrogel, especificamente, é um gel que pode se expandir quando em contato com água.

Os hidrogéis têm sido amplamente utilizados nas áreas médica e biotecnológica devido às suas características, que mimetizam as propriedades mecânicas do tecido conjuntivo cartilaginoso humano, apresentando diversas vantagens como biocompatibilidade, alta capacidade de intumescimento, elasticidade que minimiza atritos, possibilidade de incorporação de fármacos,

porosidade, dentre outras (SÁEZ, HERNÁEZ e ANGULO, 2003). O hidrogel pode ser facilmente moldado, encontrando-se na forma de matrizes prensadas, micropartículas, esponjas, filmes, revestimentos, dentre outras, de acordo com a aplicação (MOURA, 2005).

Os hidrogéis têm sido utilizados como veículos para imobilização, encapsulamento e liberação controlada de inúmeras substâncias e fármacos, como antibióticos, anticoagulantes, anticorpos, contraceptivos (AFRASSIABI, HOFFMAN e CADWELL, 1987).

Os hidrogéis podem ser classificados basicamente em físicos ou químicos, convencionais ou responsivos. Os hidrogéis físicos, também chamados de pseudogéis, não são homogêneos e são mantidos por forças secundárias, como ligações de hidrogênio, forças eletrostáticas, interações hidrofóbicas e enovelamento das cadeias. Essas ligações são facilmente desfeitas por variações de temperatura e pH. Os hidrogéis químicos, também chamados de permanentes, são formados principalmente por ligações covalentes e por reticulação, sendo mais resistentes que os físicos (ROSIK e YOSHII, 1999).

Um hidrogel convencional é aquele que incha significativamente em água, sem se dissolver, mas não exhibe mudanças no grau de inchamento em relação a estímulos externos. Já os hidrogéis responsivos, chamados de “*smart hydrogels*” ou hidrogéis inteligentes, têm a propriedade adicional de exibir variação no grau de inchamento, ou ainda, nas propriedades de transição de fases que variam conforme estímulos externos, como pH, temperatura, campo elétrico ou luz (FRAILE e SERRANO, 2009).

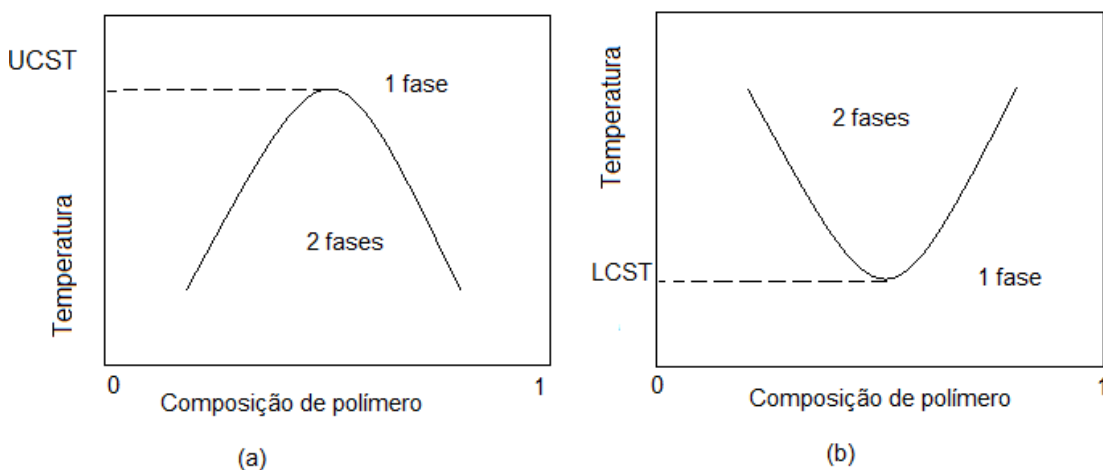
2.3.1 HIDROGÉIS TERMOSENSÍVEIS

Dentre os polímeros responsivos, os mais estudados são os termosensíveis. Um hidrogel termosensível é aquele que é capaz de exibir um comportamento de expansão e/ou contração como função da variação da temperatura (SILVA, 2006). A temperatura é um fator importante para a solubilidade de um polímero, podendo melhorar ou piorar com a variação desta variável. Existem algumas interações moleculares fundamentais que possibilitam a transição de fase: as forças de Van

der Waals, as interações hidrofóbicas, as eletrostáticas e as ligações de hidrogênio.

Soluções poliméricas apresentam diagramas de fase característicos, com temperaturas críticas, existindo dois tipos de comportamento: UCST (*Upper Critical Solution Temperature*) e LCST (*Lower Critical Solution Temperature*), ambas representadas na Figura 2-3 (SCHMALJOHANN, 2006), (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001).

A UCST, também chamada de Temperatura Consoluta Superior é característica da maioria dos materiais e soluções poliméricas. Para estes sistemas a solubilidade aumenta com o aumento da temperatura. Acima da temperatura de transição UCST solvente e soluto são miscíveis e abaixo da UCST o sistema exibe transição de fases e o soluto precipita. Nesse sistema diz-se que há uma dependência positiva em relação a temperatura. Exemplos de soluções poliméricas com UCST são o acetato de celulose/tetracloroetano, poliestireno/cicloexano e o poliisobutileno/benzeno (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001).



Fig

ura 2-3: Diagrama de fases para os sistemas UCST a) e LCST b) [Adaptado de (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001)]

Hidrogéis que possuem um comportamento LCST, como o PNIPAm e o Poli(N,N-dietilacrilamida), P(DEAAm), reduzem seu volume com o aumento da temperatura (SOUSA, 2009). Para $T < LCST$ o polímero é solúvel em fase aquosa

e apresenta cadeia estendida e rodeada por moléculas de água, como visualizado na Figura 2-4. 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, ou $T > LCST$, soluto e solvente são imiscíveis, ocorrendo separação de fases. A altas temperaturas, as interações entre partes hidrofóbicas ficam mais fortes e as ligações de hidrogênio enfraquecem, levando a contração do gel (DIMITROV, TRZEBICKA, *et al.*, 2007).

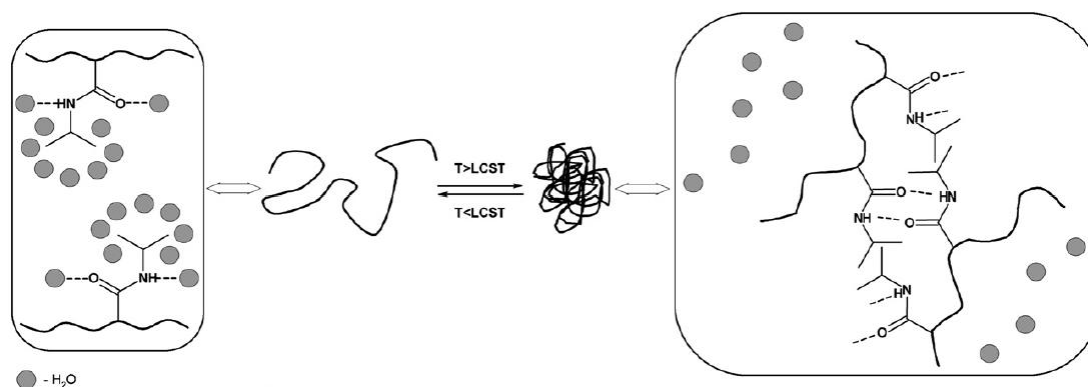


Figura 2-4: Esquema representativo da transição de fase de um hidrogel termossensível. A baixas temperaturas (esquerda) a rede é considerada hidrofílica, absorvendo grandes quantidades de água e a altas temperaturas (direita), a rede torna-se hidrofóbica, expulsando da rede as moléculas de água. Fonte: (DIMITROV, TRZEBICKA, *et al.*, 2007)

Essa transição de fases em hidrogéis termossensíveis é reversível, podendo ocorrer diversas vezes sem causar danos a estrutura do mesmo (SILVA, 2006). Outra característica importante para sistemas com transição de fases tipo LCST é o fato de poder alterar essa temperatura por copolimerização. A utilização de comonômeros hidrofílicos ou hidrofóbicos aumenta ou diminui a temperatura de transição de fases, respectivamente (EECKMAN, MOES e AMIGHI, 2004).

Essa possibilidade de mudança de LCST é de extrema importância para alguns sistemas de liberação controlada de fármacos. Obtendo-se hidrogéis com temperatura de transição acima da temperatura corporal, a liberação dos fármacos será feita através do método de hipertermia local (KOHORI, SAKAI, *et al.*, 1999).

A termodinâmica dos hidrogéis descreve esse fenômeno de transição como resultado de dois fatores básicos: a mudança na energia livre de mistura do gel quando em contato com o solvente, e a variação da energia livre elástica devido à alongação das cadeias da rede quando o gel incha (SOUSA e FREITAS, 1995).

2.4 HIDROGÉIS NA REPARAÇÃO DA CARTILAGEM ARTICULAR

A Cartilagem articular é um material biológico altamente hidratado que recobre as extremidades dos ossos de todas as articulações. São capazes de suportar peso, sustentando elevadas cargas, que são aplicadas durante os movimentos do corpo. Sua principal função é distribuir tais cargas e reduzir ao máximo o atrito nas articulações (HOLLANDA, TESSMARA, *et al.*, 2004).

A composição da cartilagem articular divide-se basicamente numa parte fluida, composta de água e eletrólitos, e uma parte formada por uma complexa rede de colágeno.

Lesões de cartilagem articular são difíceis de serem tratadas, com capacidade limitada de reparação, permanecendo muitas vezes não curadas e causando degeneração dos tecidos e consequente início de osteoartrite (HOLLANDA, TABATAB e MIKOS, 2003), (STOOP, 2008). As opções mais comuns para tratamento nestes casos são procedimentos cirúrgicos, que tem demonstrado eficácia limitada (HOLLAND, BODDE, *et al.*, 2005). Outro procedimento recentemente estudado é o estímulo do crescimento dos tecidos.

Nos últimos anos pesquisas buscando alternativas no tratamento destas lesões vem sendo desenvolvidas a partir da utilização de diferentes materiais. Materiais de preenchimento porosos são os mais adequados, pois facilitam a fixação do material e o crescimento do tecido para dentro dos poros, permitindo ainda a incorporação de maior quantidade de água. Os polímeros são uns dos materiais mais estudados, tendo sido testados poliamidas e polietilenos de alta densidade (BAVARESCO, 2000).

Sistemas poliméricos baseados em polietil metacrilato (poliHEMA ou PHEMA) e tetraidrofurfuril metacrilato (THFMA) foram desenvolvidos e pesquisados por Patel e Downes, tendo se mostrado muito eficientes no reparo da cartilagem articular através da absorção de fluidos vizinhos e consequente incorporação de proteínas da matriz, como fatores de crescimento que permitem o reparo das lesões (MALMONGE e ZAVAGLIA, 1997).

Os hidrogéis apresentam vantagens em relação a outros polímeros para a substituição tecidos moles no organismo por sua similaridade com estes, devido a sua capacidade de absorver alto teor de água em sua estrutura e proporcionar a difusão livre de metabólitos e água (KHURSHID, SLAUGHTER, *et al.*, 2009).

2.5 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE DROGAS

Os modos convencionais de administração de fármacos resumem-se a via oral ou injeções intravenosas. O desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos permite que tratamentos tornem-se mais eficazes à medida que o fármaco pode ter sua ação terapêutica ampliada.

Por definição, o termo “sistema de liberação de fármacos” refere-se à tecnologia utilizada para aperfeiçoar a liberação de um fármaco, onde o princípio ativo deve ser liberado, melhorando a resposta terapêutica (SOUSA, 2009).

Também conhecido por *Drug Delivery Systems* (DDS), a liberação controlada permite prolongar o tempo de liberação do fármaco no organismo e sustentar a concentração plasmática (VILLANOVA, ORÉFICE e CUNHA, 2010).

Para toda substância farmacologicamente ativa atuando no organismo existem duas concentrações limites bem conhecidas e que dependem da natureza do fármaco e da sua interação com o organismo. No limite inferior existe a concentração mínima efetiva, abaixo da qual as doses administradas não têm valor terapêutico e onde, conseqüentemente, o fármaco não é eficiente. No limite superior se encontra a concentração máxima efetiva, acima da qual as doses administradas tornam-se tóxicas para o organismo gerando efeitos colaterais. A

dose do medicamento deve estar entre esses limites, chamada faixa terapêutica (MARTELLINI, 1998).

Na forma convencional de administração, o fármaco é colocado em contato com o organismo e inicia sua ação terapêutica chegando, num curto período de tempo, a um pico máximo de ação, às vezes ultrapassando o limite máximo e decaindo a partir de então até atingir a faixa subterapêutica. Assim, além de gerar certa toxicidade ao organismo, doses repetitivas do fármaco são necessárias para manutenção do efeito terapêutico do fármaco e consequente realização eficaz do tratamento a que se destina (NAIR e LAURENCIN, 2006).

A liberação controlada da droga, por sua vez, permite manter o nível terapêutico da droga com doses reduzidas ou únicas, o que reduz o risco de toxicidade, além de permitir o direcionamento da ação do fármaco em ponto específico do organismo, facilita a absorção do mesmo, reduz a quantidade de fármaco ingerido pelo paciente e reduz também o tempo do tratamento clínico (LANGER, 1990), (PEPPAS e LANGER, 2003) (LANGER, ANDERSON, *et al.*, 2011). Assim, a liberação controlada apresenta a vantagem principal de eliminar as alterações cíclicas na concentração dos fármacos no organismo e aumentar a disponibilidade biológica do mesmo. A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** mostra uma comparação entre os sistemas convencionais e de liberação controlada de fármaco.

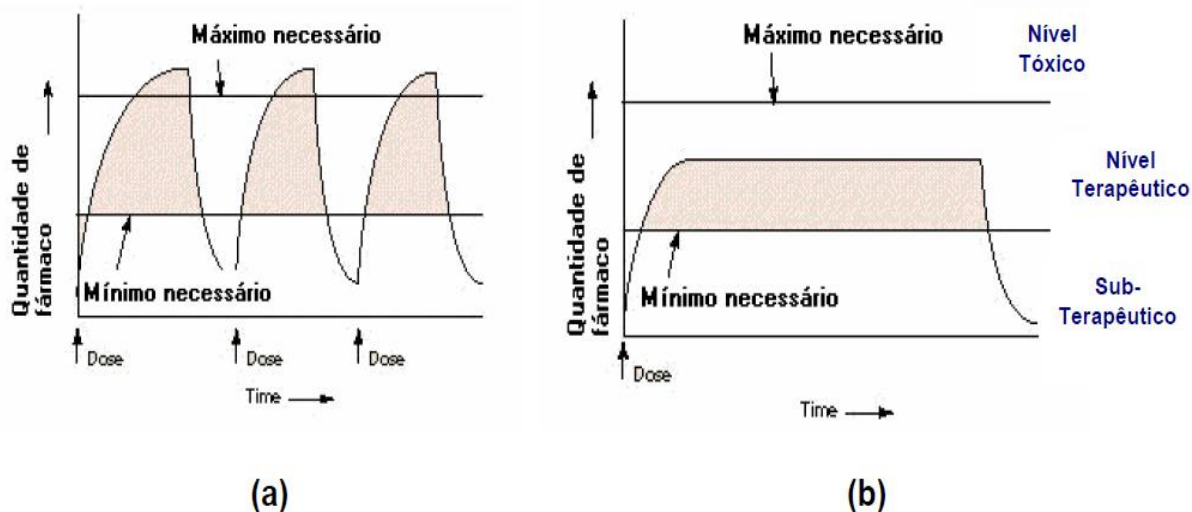


Figura 2-5: Comparação entre a quantidade de fármaco liberada com o tempo a) sistema convencional e b) sistema de liberação controlada. [Adaptado de (MOURA, 2005)]

Os polímeros sintéticos são amplamente utilizados na medicina, apresentando inúmeras aplicações na área farmacêutica como excipientes, agentes complexantes, agentes emulsionantes, gelificantes, solubilizantes e estabilizantes (VILLANOVA, ORÉFICE e CUNHA, 2010). Os materiais mais usados na liberação de fármacos são os polímeros, devido principalmente as propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade (GALAEV e MATTIASSON, 2008). Assim, os hidrogéis são extremamente úteis em sistemas de liberação controlada de fármacos, principalmente devido ao seu alto teor de água e natureza elástica, que o torna o biomaterial mais semelhante aos tecidos naturais, além de serem biocompatíveis.

Os mecanismos de liberação resumem-se a sistemas controlados por difusão, por reações químicas ou por ativação do solvente.

Sistemas controlados por difusão envolvem um processo simultâneo de absorção de água e desorção do fármaco através do intumescimento do polímero. Nestes casos, o fármaco pode estar envolvido em uma membrana polimérica que controla a difusão ou estar uniformemente distribuída através do polímero

(PEPPAS e LANGER, 2003). A difusão, a nível macroscópico, obedece a equação semi-empírica dada pela Lei de Fick da difusão.

A liberação por reação química envolve a degradação do polímero, que pode ocorrer, preferencialmente, por enzimas ou pela água (PEPPAS e LANGER, 2003). O uso de polímeros biodegradáveis apresenta a vantagem de que, em geral, não é necessária a remoção cirúrgica do dispositivo.

No caso da difusão ativada pelo solvente a liberação da droga é feita através de efeitos osmóticos. No caso dos hidrogéis a liberação é feita através da água. Quando inserido em solução aquosa, a água penetra no hidrogel, aumentando o volume e exercendo pressão sobre o fármaco, fazendo-o sair.

2.6 POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA) - PNIPAm

O NIPAm é um monômero que apresenta a seguinte estrutura química (Erro! Fonte de referência não encontrada.)

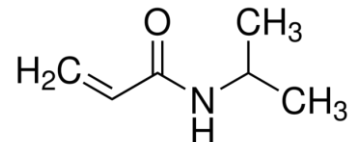


Figura 2-6: Representação da estrutura química do monômero NIPAm

Este monômero pode polimerizar e formar o Poli (N-isopropilacrilamida), um polímero hidrofílico e não tóxico, objeto principal deste estudo, e um dos polímeros termossensíveis mais estudados, devido a suas interessantes propriedades térmicas. O PNIPAm, cuja representação da estrutura química é mostrada na Figura 2-7 Erro! Fonte de referência não encontrada., pertence ao grupo dos derivados da acrilamida, precisamente dos polímeros de acrilamida N-substituída.

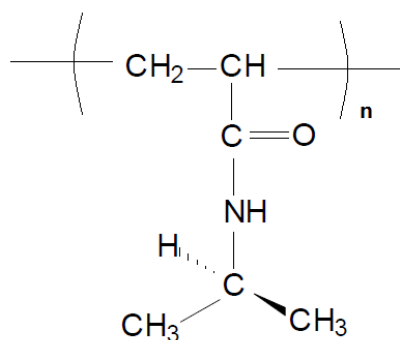


Figura 2-7: Representação da estrutura química do polímero PNIPAm

A primeira descrição de uso do PNIPAm na literatura data do ano de 1956 (SCHILD, 1992). Desde então, o PNIPAm tem sido intensamente pesquisado e utilizado em diferentes aplicações como processos de separação e imobilização de enzimas e proteínas, músculos artificiais, dispositivos para liberação de fármacos, blendas, dentre outras aplicações (RATNER e HOFFMAN, 1976), (LIU, TAO e ZHUO, 1993), (KOHORI, SAKAI, *et al.*, 1999), (DIEZ-PENA, QUIJADA-GARRIDO e BARRALES-RIENDA, 2002), (DEKA, QUARTA, *et al.*, 2011).

O extensivo uso do PNIPAm deve-se a sua transição de fases tipo LCST a uma temperatura de cerca de 32°C, próximo a temperatura fisiológica, com a possibilidade e facilidade de variar esta temperatura LCST e o fato de possuir grande capacidade de absorção (MEID, FRIEDRICH, *et al.*, 2011). É relatado que o PNIPAm, a temperatura ambiente, absorve cerca de 30 vezes o seu peso em água (SOUSA e FREITAS, 1995), (EECKMAN, MOES e AMIGHI, 2004). A incorporação de comonômeros com grupos hidrofílicos ou hidrofóbicos ou a adição de cosolventes, sais, surfactantes ou eletrólitos podem fazer com que a LCST do polímero varie. Este polímero apresenta grupos hidrofílicos, NH e C=O, e um grupo hidrofóbico, o grupo isopropil, que determinam a sensibilidade térmica do PNIPAm.

A literatura reporta que o grupo de pesquisa de Pelton foram os pioneiros na síntese de microgéis de PNIPAm, aquecendo a solução de monômeros a 70°C e coletando então os precipitados (GAO e FRISKEN, 2003).

Dentre as principais pesquisas envolvendo o polímero PNIPAm podemos citar o desenvolvimento de copolímeros de PNIPAm e DMAAm (Dimetilacrilamida) por Kohori e colaboradores. Esses copolímeros foram usados para tratamentos antitumorais, pela incorporação do fármaco Doxorrubicina, obtendo temperatura de transição LCST de 40°C. Depois de ser depositado em local específico, o compósito libera o fármaco através do aquecimento local a 42,5°C, método chamado hipertermia local (KOHORI, SAKAI, *et al.*, 1999).

O desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos baseados na temperatura corporal, 37°C, tem ganhado atenção dos pesquisadores nos últimos anos. A utilização de compósitos de PNIPAm com temperatura de transição de fases superior a 37°C vem sendo desenvolvidos e utilizados, pois a partir da aplicação no corpo humano, o compósito estará no estado expandido e a liberação do fármaco será realizada por qualquer outro estímulo, mas sem precisar variar a temperatura do meio (EECKMAN, MOES e AMIGHI, 2004).

Coughlan e colaboradores, em 2004 e 2006, avaliaram a liberação de fármacos e a cinética de inchamento/contração do hidrogel de PNIPAm em função das propriedades físico-químicas dos fármacos utilizados. Concluíram que a presença de fármacos hidrofóbicos ou hidrofílicos fazem diminuir ou aumentar o grau de expansão dos hidrogéis, respectivamente. O tamanho e a solubilidade do fármaco e as interações fármaco-polímero podem afetar a cinética de liberação e de inchamento dos hidrogéis (COUGHLAN, QUILTY e CORRIGAN, 2004), (COUGHLAN e CORRIGAN, 2006).

Em 2011, nanoplataformas médicas baseadas em agregados de nanopartículas superparamagnéticas, feitas de óxido de ferro, revestidas com PNIPAm foram desenvolvidas para utilização como transportadores do fármaco Doxorrubicina, um quimioterápico. A ilustração de tal sistema pode ser vista na Figura 2-8. Após o direcionamento do sistema por magnetização, a propriedade termossensível do PNIPAm é utilizada para realizar a liberação do quimioterápico, pela variação da temperatura. Além disso, o revestimento de PNIPAm protege tecidos saudáveis de toxicidade. Tal pesquisa concluiu ser um importante passo na cura de células cancerosas, sendo base para futuras investigações. A combinação das propriedades de sistemas magnéticos e a termossensibilidade do

PNIPAm são eficientes na liberação de fármacos, pois o calor produzido pelas nanopartículas magnéticas podem ser usadas para danificar as células cancerosas por hipertermia e ao mesmo tempo desencadear a liberação do fármaco (DEKA, QUARTA, *et al.*, 2011).

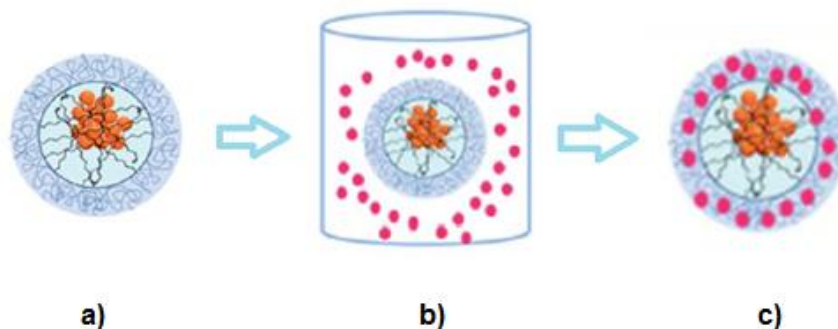


Figura 2-8: a) Ilustração das nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro revestidas com PNIPAm. b) Em solução do fármaco Doxorubicina e c) fármaco inserido no revestimento de PNIPAm. (Adaptado de (DEKA, QUARTA, *et al.*, 2011)

A combinação das propriedades do PNIPAm com outros materiais, como visto no exemplo acima, é muito utilizada. Compósitos de hidroxiapatita e PNIPAm poderão ser usados para recuperação de lesões de cartilagem articular, como será visto adiante.

A Tg é a temperatura na qual ocorre a passagem do estado vítreo para um estado na qual as cadeias poliméricas possuem mobilidade maior, dando um comportamento elastomérico para os polímeros. A Tg pode variar de acordo com o peso molecular (cadeias menores possuem maior mobilidade), volume livre (quanto maior, maior a facilidade de deslocamento das cadeias e menor a Tg), tipo de ligação secundária ou interações intermoleculares (ligações mais fortes entre as cadeias geram Tg's maiores) e mobilidade das cadeias (quanto maior a reticulação, maior a Tg). O valor da temperatura de transição vítrea, Tg, para o PNIPAm é determinada em cerca de 128°C, podendo variar de 85 a 145°C, dependendo da composição do polímero (SOUSA, MAGALHAES e FREITAS, 1998).

Quanto a toxicidade deste polímero, a utilização de PNIPAm em preparações oculares e em materiais para neurocirurgia mostram que nenhuma toxicidade foi encontrada. Vihola e colaboradores testaram a citotoxicidade de alguns polímeros, incluindo o monômero NIPAm e o polímero PNIPAm. Dois testes foram realizados: um que mede os danos graves às células e enzimas e o outro teste que mede a diminuição da atividade mitocondrial. Ambos os testes revelaram que os polímeros termossensíveis de PNIPAm foram bem tolerados em concentrações inferiores a 10mg/ml (VIHOLA, LAUKKANEN, *et al.*, 2005).

A obtenção de hidrogéis de PNIPAm através do método eletroiniciado será um dos objetos de estudo desta dissertação. Além disso, serão feitos compósitos de PNIPAm e HAP, uma biocerâmica, e o estudo da liberação controlada do fármaco Ácido Acetilsalicílico (AAS) nestes, para destinação futura de aplicação em lesões de cartilagem articular.

2.7 HIDROXIAPATITA (HAP)

Os fosfatos de cálcio são um grupo de biomateriais que possuem propriedades e composições que podem existir em uma série de fases, dentre os quais a Hidroxiapatita (HAP). Biomateriais a base de fosfatos de cálcio recebem diversas aplicações, dentre médicas e dentárias, por apresentarem ausência de toxicidade local ou sistêmica, ausência de respostas a corpos estranhos ou inflamações e aparente habilidade de ligação ao hospedeiro (RIBEIRO, 2007).

A apatita é um nome geral para compostos com estrutura basicamente hexagonal e fórmula geral $M_{10}(ZO_4)_6X_2$, podendo os índices M, ZO e X ser:

Tabela 1: Composição geral das apatitas – possibilidades para os índices M, ZO e X

M	$Ca^{2+}, Sr^{2+}, Pb^{2+}, Cd^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Na^+, K^+$
----------	---

ZO	PO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , VO_4^{2-} , SiO_4^{4-}
X	F^- , Cl^- , OH^- , Br^- , O_2^-

A forma predominante desses compostos é a apatita de cálcio $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$. Quando o ânion X é uma hidroxila OH^- , forma-se a hidroxiapatita – HAP, uma biocerâmica, fase do fosfato de cálcio mais frequentemente usada, sendo o constituinte mineral natural encontrado no osso, representando de 30 a 70% da massa dos ossos e dentes (COSTA, LIMA, *et al.*, 2009). Para os biomateriais de fosfatos de cálcio sintéticos existem diferenças em composição, sendo a HAP aqui classificada como $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. A HAP é um fosfato de cálcio hidratado, altamente estável, que se cristaliza no sistema hexagonal, cuja célula unitária tem as dimensões $a = b = 0,9422 \text{ nm}$ e $c = 0,6880 \text{ nm}$ (SANTOS, 2005), (LEGEROS, ITO, *et al.*, 2009). A densidade da HAP é de $3,16 \text{ g/cm}^3$.

Devido a sua similaridade química com a fase mineral dos tecidos ósseos, a HAP é um dos materiais mais biocompatíveis, sendo ainda osteocondutor (favorece o crescimento ósseo) e bioativo (estabelece ligações químicas entre ela e o tecido ósseo). Além disso, a HAP induz a regeneração tecidual pela adsorção de água, proteínas e colágeno. Outra característica importante e que torna a HAP um excelente suporte para ação de fármacos é sua alta capacidade de absorção/desorção de moléculas.

A HAP, por ser uma cerâmica, tem também a característica de ser frágil. Portanto, dependendo do uso ela não é vantajosa. Porém, quando agregada a outros materiais, como os hidrogéis poliméricos, formam compósitos com propriedades superiores às dos componentes individuais.

A HAP vem sendo utilizada em próteses e implantes, no tratamento de tumores, na área odontológica, como adsorvente em cromatografia líquida, dentre outras (COSTA, LIMA, *et al.*, 2009). Quando utilizada em sistemas farmacêuticos para implantes ósseos, estimula a resposta biológica permitindo restabelecer as funções do tecido perdido. Portanto, compósitos formados por hidrogéis e HAP constituem sistemas que podem ser excelentes transportadores de fármacos, principalmente antibióticos e anti-inflamatórios, liberando-os na região do

implante. A Figura 2-9 mostra algumas formas de utilização da HAP no corpo humano.

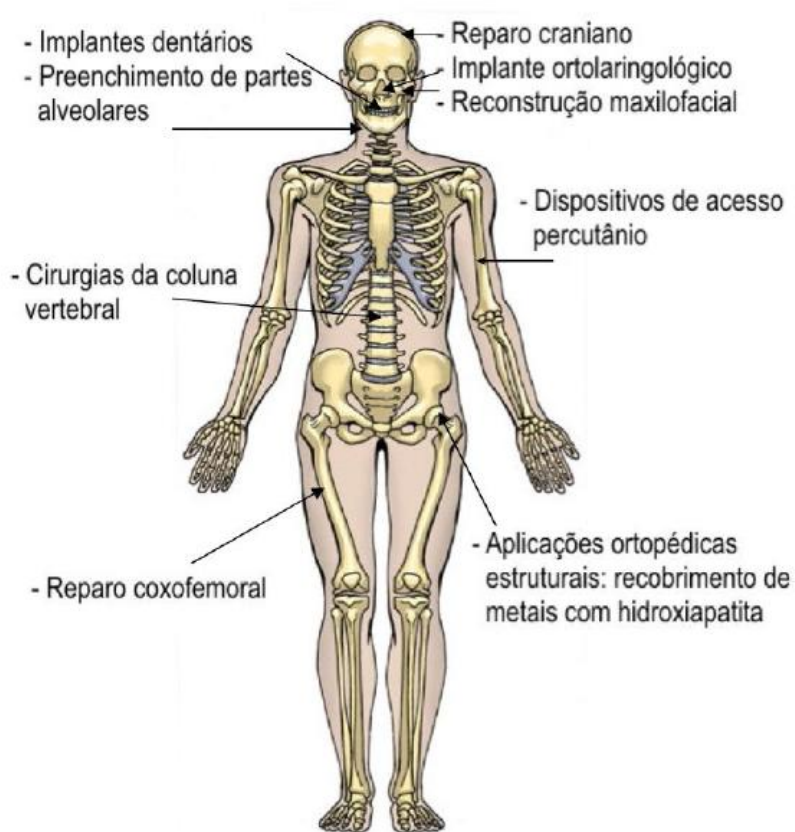


Figura 2-9: Aplicações da HAP no corpo humano. [Adaptado de (PIRES, 2010)]

2.8 COMPÓSITOS POLÍMERO-HIDROXIAPATITA

Um compósito é definido como um material formado por dois ou mais constituintes, com distintas composições, estruturas e propriedades, separados por uma interface. Num compósito as propriedades individuais são afetadas mesmo que pela introdução de quantidades insignificantes de outro constituinte (FRANÇA, FIGUEIREDO, *et al.*, 2005).

A utilização de compósitos pode agregar as melhores características e propriedades dos seus constituintes. Compósitos formados por polímeros e biocerâmicas tornam-se promissores como biomateriais. Esses compósitos combinam as propriedades cerâmicas, como o comportamento bioativo, e as propriedades poliméricas, como grande absorção de água e melhores características mecânicas (CARLO, 2007). Polímeros reforçados com HAP vêm sendo extensamente utilizados em aplicações clínicas como cimentos ósseos, recobrimento de próteses e implantes dentários, preenchimento de defeitos ósseos, dentre outros.

Na literatura há diversos exemplos de compósitos feitos com polímeros e HAP, em sua maioria para tratamento de lesões ósseas e recuperação da cartilagem articular. Sousa e colaboradores desenvolveram compósitos de polimetilmetacrilato (PMMA) e HAP. O polímero PMMA apresenta limitações quanto a resistência mecânica, por ser frágil, podendo ainda causar alguns danos ao tecido ósseo. Ao agregar a HAP, o biomaterial formado tende a melhorar as propriedades mecânicas (SOUSA, FORTULAN, *et al.*, 2006). A produção de compósitos de PMMA e HAP foram feitos também por Silva Jr e Oréfice, através de polimerização em massa do metacrilato de metila na presença de partículas de HAP. Os compósitos apresentaram bioatividade *in vitro*, mostrando-se potenciais candidatos para aplicações biomédicas (SILVA JUNIOR e ORÉFICE, 2001).

O Poli(hidroxi)butirato (PHB) foi o polímero escolhido por Carlo como constituinte do compósito com HAP para aplicações em ortopedia, precisamente em testes experimentais em ulna de coelhos. Os testes demonstraram que os compósitos formados são biocompatíveis e se integram ao tecido ósseo (CARLO, 2007). Compósitos feitos com Poliamida (PA) e HAP e ainda, compósitos de Polietileno de alta densidade (PEAD) e HAP foram desenvolvidos por Dabbas e colaboradores (DABBAS, LEITE, *et al.*, 2008). Biocompósitos de Poli(3-hidroxi)butirato), o P(3HB), e HAP, desenvolvidos por Boldt, mostraram-se promissores como biomateriais, podendo ser utilizados como indutores ósseos (BOLDT, FOLGUEIRAS e PEZZIN, 2010).

Na literatura, PNIPAm e HAP foram utilizadas para formação de um material inteligente para aplicações em engenharia tecidual. Wei e colaboradores

utilizaram o PNIPAm para cobrir a superfície de nanopartículas de HAP, formando um material mais bioativo e biocompatível que a HAP sozinha (WEI, HE, *et al.*, 2009).

2.9 SÍNTESE ELETROINICIADA

Dentre as técnicas de síntese de hidrogéis, destacam-se a polimerização radicalar termicamente iniciada e as iniciadas por reações redox, todas em soluções (SCHILD, 1992). A solução é constituída de monômero e o comonômero, em geral o agente reticulante, um iniciador (ou par), além do solvente. A solução é colocada em um molde e submetida ao processo de polimerização, que pode ser ativado também por ultravioleta ou radiação ionizante (SCHILD, 1992).

A polimerização eletroiniciada é uma maneira não muito comum de sintetizar polímeros. Ela vem sendo utilizada por causa das suas vantagens, a saber (KIKUCHI, IIDA e OKAYA, 2010):

- ✓ Os iniciadores podem ser reduzidos e, possivelmente, desnecessários.
- ✓ É possível controlar a velocidade de polimerização através do controle da corrente eletrolítica.
- ✓ O tempo de polimerização em geral é mais curto.

A polimerização eletroiniciada é realizada em célula eletrolítica tipo H ou de 3 eletrodos (representado na Figura 2-10), utilizando eletrodo de trabalho (ânodo) e um contra eletrodo (cátodo), e no caso da célula de 3 eletrodos um eletrodo de referência. Nesse processo, na interface cátodo/solução acontece a redução e na interface ânodo/solução acontece a oxidação. O processo de polimerização eletroiniciada é feito utilizando um aparelho Potenciostato/Galvanostato. No modo

Galvanostato o equipamento controla a corrente que passa pela célula eletrolítica e mede a diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o de referência.

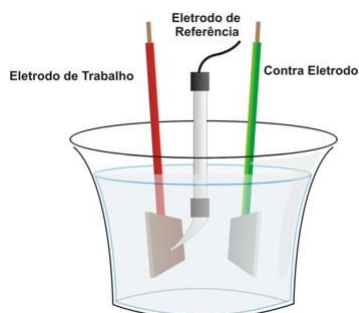
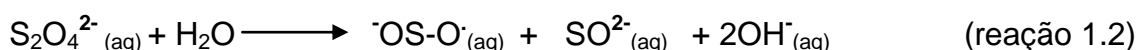
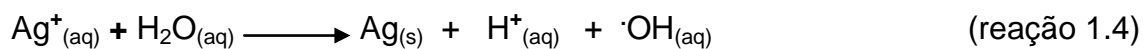


Figura 2-10: Célula eletroquímica de 3 eletrodos

O método eletroquímico é simples e pode ser feito à temperatura ambiente. Ao iniciar a passagem de corrente, o eletrodo de trabalho gera íons (Ag^+) como mostra o Esquema abaixo, (YILDIZ e YASAR, 2005), reação 1.1. O ânion persulfato dissociado se dirige ao ânodo. A hidrólise deste ânion gera uma espécie ânion radical, visto na reação 1.2. As reações 1.3 e 1.4 também geram radicais livres, que reagem com o monômero formando-se a espécie propagante (reação 1.5) que por sua vez conduzirá a polimerização, a temperatura ambiente. Através da agitação magnética, os íons radicais pode iniciar a polimerização, gerando espécies propagantes e fazendo com que todo o iniciador seja consumido nos estágios iniciais da reação. O processo de iniciação pode ser resumido assim: no eletrodo de trabalho inicia-se a ionização com a consequente perda de elétrons. Ao mesmo tempo, radicais livres começam a ser formados pela dissociação do iniciador sobre o eletrodo de trabalho.

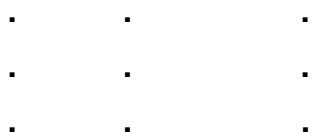
1- Iniciação (Eletrodo de trabalho - Ag)





I \cdot pode ser $\cdot\text{OS-O}\cdot_{(\text{aq})}$, $\text{H}\cdot_{(\text{aq})}$, $\cdot\text{OH}_{(\text{aq})}$

2- Propagação



3- Terminação



A polimerização eletroiniciada de redes acrílicas realizadas por Decker e colaboradores gerou resinas acrílicas resistentes. O processo mostrou-se ser eficiente para cura de tintas acrílicas, base para revestimentos na indústria automotiva e proteção de substratos metálicos (DECKER, VATAJ e LOUATI, 2004).

O uso da polimerização eletroiniciada ainda foi feito por Sahu na polimerização de anidrido maléico (MA) com 1,4-dimetilpiridiniumiodido (SAHU, 1999). Yashoda utiliza este método para obter metacrilato de metila iniciada por sulfato de hidroxilamina (CDH) em solução de ácido sulfúrico e metanol, com a vantagem adicional de não produzir gases tóxicos gerados em outras formas de

síntese desse material. Além disso, Yashoda conclui que o método eletroiniciado é seguro e simples para a síntese de polímeros de alto peso molecular, obtendo maior rendimento (YASHODA, SHERIGARA e VENKATESWARAN, 2000).

O método de polimerização eletroiniciada para o PNIPAm não foi encontrada na literatura. Neste trabalho utilizamos a síntese eletroiniciada, com passagem de corrente de 100mA, pelo tempo de 1 hora, através de um equipamento Potenciostato/Galvanostato. Utilizamos eletrodo de prata como eletrodo de trabalho e eletrodo de platina como contra-eletrodo.

2.10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A introdução apresentada anteriormente fundamenta os objetivos principais desta dissertação de obtenção de dois sistemas baseados em hidrogéis de PNIPAm, ambos para possíveis e potenciais usos em liberação controlada de fármacos.

O primeiro sistema constituído de hidrogéis de PNIPAm, preparados via síntese eletroiniciada, uma forma diferenciada e inovadora de obtenção do hidrogel. O segundo, a obtenção de biocompósitos formados por PNIPAm e HAP, uma biocerâmica, também com futuras aplicações para tratamento de lesões de cartilagem articular.

O PNIPAm e a HAP foram escolhidas devido à suas propriedades, descritas nos tópicos anteriores.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Síntese e caracterização físico-química de 2 sistemas de hidrogéis termossensíveis baseados no polímero PNIPAm:

- ✓ Hidrogéis PNIPAm preparados via síntese eletroiniciada (Hgel^{se}), doravante denominados Hgel^{se}0, Hgel^{se}1, Hgel^{se}2 e Hgel^{se}3.
- ✓ Hidrogéis biocompósitos de PNIPAm e HAP, preparados via síntese química, doravante denominados Hgel^{sq}0, Hgel^{sq}-HAP30, Hgel^{sq}-HAP50 e Hgel^{sq}-HAP60.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos seguem:

3.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS PARA HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel^{se}):

- ✓ Síntese eletroiniciada dos hidrogéis via polimerização radicalar;
- ✓ Determinação do peso molecular por Viscosimetria (Hgel^{se}0) e por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC);
- ✓ Caracterização dos hidrogéis obtidos por Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), análise térmica por Termogravimetria (TGA) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), determinação da temperatura de transição (LCST) por Medidas de Transmitância (UV-Vis).

3.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS PARA OS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS

PNIPAm/HAP (Hgel^{sq}):

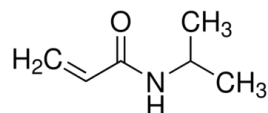
- ✓ Síntese dos hidrogéis biocompósitos via polimerização radicalar iniciada por reação redox;
- ✓ Caracterização dos hidrogéis biocompósitos obtidos por Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), análise térmica por Termogravimetria (TGA), estudos de densidade e porosidades, Difração de Raios-X (DRX) e análise da estrutura por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
- ✓ Realização de estudos de intumescimento em solução aquosa e em solução do fármaco AAS e estudos de liberação em solução aquosa da amostra Hgel^{sq}0.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

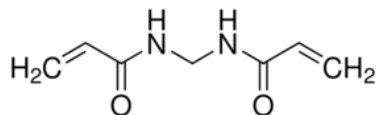
4.1 MATERIAIS

4.1.1 MATERIAIS UTILIZADOS NA SÍNTESE DOS HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel^{se})

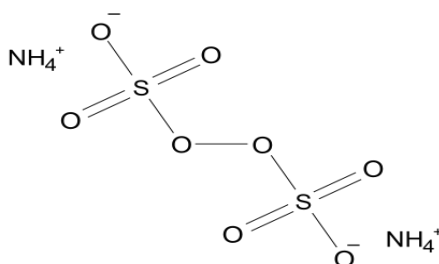
- *N*-isopropilacrilamida (NIPAm) – monômero, de peso molecular 113,16g/mol, da Aldrich, cuja representação da estrutura química é:



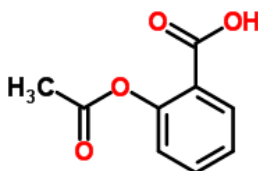
- *N,N'*-metileno(bis)acrilamida (MBAAm) – agente reticulante, de peso molecular 154,17 g/mol, da Aldrich, cuja representação da estrutura química é:



- Persulfato de amônio (APS)- iniciador, formador de radicais livres em meio aquoso, de peso molecular 228,20 g/mol, da Aldrich, cuja fórmula química é:



- Ácido Acetil Salicílico (AAS) – fármaco anti-inflamatório e antitérmico, de nível farmacêutico, de peso molecular 180 g/mol, cujo nome químico é Ácido 2- acetoxibenzóico e cuja representação da estrutura química é:



- O instrumento usado na polimerização foi um Potenciostato/Galvanostato Omnimetra Instrumentos modelo PG39M, mostrado na Figura 4-1.

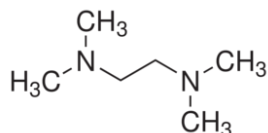


Figura 4-1: Potenciostato/Galvanostato Omnimetra utilizado neste trabalho

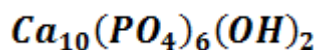
4.1.2 MATERIAIS UTILIZADOS NA SÍNTESE DOS HIDROGÉIS BIOCOMPÓSITOS DE PNIPAm/HAP (H_{gel}^{sq})

Além dos materiais N-isopropil acrilamida (NIPAm), N,N'-metileno(bis)acrilamida (MBAAm), Persulfato de amônio (APS) e água destilada, foram utilizados:

- *N,N,N',N'*-Tetrametiletenodiamina (TEMED) – agente acelerador, de peso molecular 116,20 g/mol, ReagentPlus[®], 99%, da Sigma Aldrich, cuja representação da estrutura química é:



- Hidroxiapatita (HAP) – biocerâmica, em pó, de peso molecular 1004,62 g/mol. Foi usada o Fosfato Tribásico de cálcio, ~37%Ca, da Strem Chemicals, cuja fórmula é:



4.2 MÉTODOS DE SÍNTESE

4.2.1 SÍNTESE DOS HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel^{se})

Todos os materiais foram usados como recebidos. Soluções aquosas dos reagentes foram preparadas nas seguintes concentrações:

- NIPAm – 0,88M;
- APS – 0,25 M;
- MBAAm – $6,5 \cdot 10^{-4}$ M.

A Tabela 2 mostra a razão de reagentes utilizados em cada síntese. A polimerização foi realizada através do método eletroiniciado utilizando Potenciostato Omnimetra, PG39M, operando no modo Galvanostático, a 100mA. A solução de monômeros foi borbulhada com nitrogênio por 5 minutos para remoção de oxigênio remanescente. A reação de polimerização eletro-iniciada foi feita em célula eletrolítica tipo H, sendo usado eletrodos de forma retangular de 2cm², tendo prata como eletrodo de trabalho e platina como contra-eletrodo. A Figura 4-2 mostra a célula eletroquímica utilizada par a síntese eletroquímica do PNIPAm.

Tabela 2: Volume das soluções utilizadas na síntese dos hidrogéis PNIPAm (Hgel^{se})

	Hgel ^{se} 0	Hgel ^{se} 1	Hgel ^{se} 2	Hgel ^{se} 3
V _{NIPAm} (ml)	20	12	10	6
V _{APS} (ml)	20	12	10	6
V _{MBAAm} (ml)	0	12	20	24
Razão volumétrica MBAAm/ NIPAm	0	1	2	4
Razão em %Mol MBAAm/NIPAm	0	0,068	0,14	0,27



Figura 4-2: Célula eletroquímica utilizada neste trabalho

A reação foi mantida sob agitação magnética durante 1 hora, a temperatura ambiente (25°C). Finalizado o tempo de reação, a solução foi colocada em banho termostaticado a 50°C. Os precipitados (Figura 4-3) foram coletados e lavados diversas vezes em água quente, também a 50°C. Após esse procedimento, o polímero resultante foi colocado em dessecador à vácuo, a temperatura ambiente.



Figura 4-3: PNIPAm precipitando após a síntese

4.2.2 SÍNTESE DOS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS PNIPAm/HAP (Hgel^{sq})

Foram preparados hidrogéis biocompósitos de PNIPAm/HAP por polimerização radicalar iniciada via reação química do par redox APS e TEMED (ver Figura 4-4). Os monômeros NIPAm e MBAAm foram polimerizados em dispersão aquosa na presença de HAP. As concentrações utilizadas foram de 1M (NIPAm); 0,05M (MBAAm); 0,01M (APS) e 0,02M (TEMED).

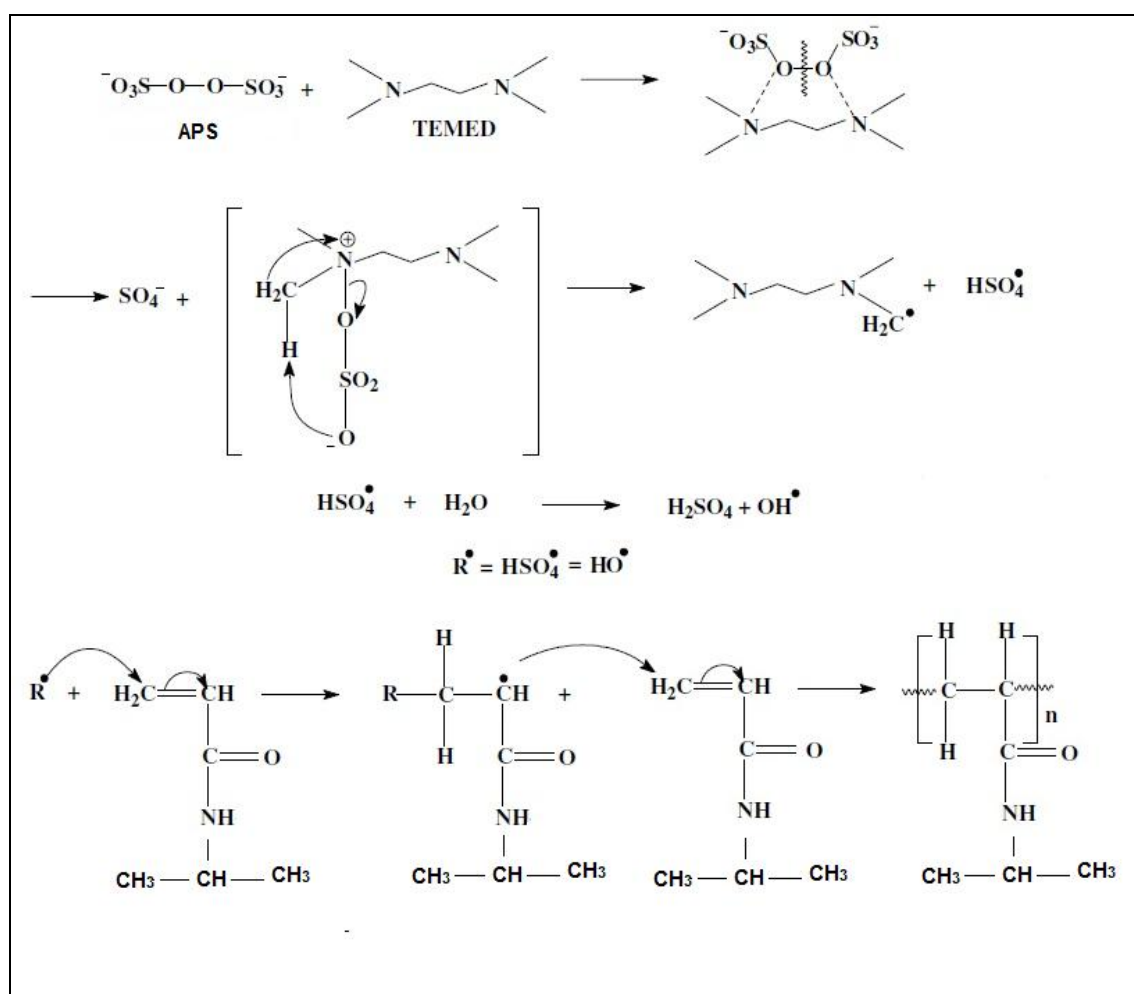


Figura 4-4: Reação química do par redox APS e TEMED

A massa do monômero NIPAm foi mantida constante em 1,13 g e a massa de HAP foi variada para obtenção de hidrogéis biocompósitos nas proporções NIPAm/HAP (%p/p): 100/0, 70/30, 50/50 e 40/60, denominados Hgel^{sq}0, Hgel^{sq}-HAP30, Hgel^{sq}-HAP50 e Hgel^{sq}-HAP60, respectivamente. A reação foi conduzida à temperatura ambiente.

4.3 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

As caracterizações feitas, exceto quando especificado o local de realização, foram feitas nos laboratórios do Centro de Estudos e Inovação em Materiais Funcionais Avançados da UNIFEI.

4.3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel^{se})

✓ Determinação do peso molecular médio do PNIPAm

A determinação do peso molecular médio do PNIPAm foi feita de duas maneiras distintas:

- Viscosimetria: feita apenas para a amostra Hgel^{se}0. O peso molecular viscosimétrico médio do PNIPAm foi determinado utilizando um viscosímetro de Ostwald. Uma solução-mãe do polímero em água, na concentração de 2 g/L, foi preparada e alíquotas foram usadas para obtenção de soluções com concentrações de 0,04, 0,08, 0,2, 0,4 e 0,8 g/L. Também foi realizada a calibração do viscosímetro com o solvente, a água, a temperatura ambiente (25°C) e assim, determinado o tempo de escoamento t_0 do solvente. O tempo de escoamento das soluções, nas diferentes concentrações, foi observado, tendo sido realizadas 10 medições de tempo para cada concentração e obtida, assim, a média dos tempos.

- Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) da Fração Solúvel: feito para todos os hidrogéis. A massa molecular média em número (M_n) e em peso (M_w), assim como o índice de Polidispersão IP (M_n/M_w) foram determinados por GPC. O solvente Tetraidrofurano (THF) foi usado como eluente, com fluxo de 1,0 mL/min, pressão de 550 psi e volume de injeção de 100 μ L. O cromatógrafo utilizado foi um HT GPC 350A equipado com detector de índice de refração, do IPEN-SP.

✓ Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR:

A análise espectroscópica na região do infravermelho com Transformada de Fourier –FTIR, foi feita em Espectrômetro da Perkin Elmer, modelo Spectrum 100 Series, na faixa de operação de 650 – 4000 cm^{-1} , usando um acessório de refletância total atenuada (ATR). Este acessório é constituído por um cristal misto de Diamante/ZnSe. As amostras foram maceradas em almofariz de ágata para obtenção de pós para análise.

✓ Análise Térmica:

A análise térmica dos hidrogéis copolímeros foi realizada por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e por Análise Termogravimétrica (TGA). As análises da temperatura de transição vítrea, T_g , dos hidrogéis PNIPAm foram feitas por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), realizadas em DSC Shimadzu 60. Foram utilizados 5mg de cada hidrogel nas análises, usando cadinho de alumínio hermeticamente fechado, com três furos na tampa. As amostras foram inicialmente aquecidas a 180°C a uma taxa de 10°C/min, então resfriadas a 25°C a uma taxa de 20°C/min. Seguidamente, foram realizadas as varreduras sob aquecimento da temperatura ambiente até 230°C, a uma taxa de 10°C/min. O primeiro ciclo de aquecimento serve para eliminação de qualquer

solvente ou umidade nas amostras. Todas as varreduras foram feitas sob atmosfera de Nitrogênio a uma taxa de 25 ml/min.

As temperaturas de Transição Vítreas, T_g , dos hidrogéis foram determinadas no *onset* e no ponto de inflexão das curvas DSC obtidas.

Os termogramas foram obtidos em um analisador termogravimétrico TGA-7 da Perkin-Elmer, utilizando-se o modo dinâmico. 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 a uma taxa de aquecimento de 20^oC/min, de 25^oC à 600^oC, utilizando-se atmosfera de Nitrogênio.

✓ Medidas de Transmitância:

A temperatura de transição de fases, LCST, dos hidrogéis polímeros foi determinada usando espectrofotômetro UV-Vis Cary 50. Soluções aquosas (1% m/V) foram preparadas por dissolução da cada hidrogel em água destilada. A transmitância foi medida a um comprimento de onda fixo de 500nm para todas as soluções. A temperatura da solução do termostato foi variada de 20 a 45^oC, em intervalos de 1^oC a cada 10 min. A temperatura de transição LCST foi determinada no *onset* da curva transmitância versus temperatura.

4.3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS PNIPAm/HAP (Hgel^{sq}):

Os hidrogéis biocompósitos foram caracterizados por Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Análise térmica por Termogravimetria (TGA) de maneira análoga ao descrito no item 4.3.1. As outras caracterizações seguem:

✓ Análise da densidade e porosidade aparente em materiais porosos por Arquimedes

A densidade e porosidade aparente de uma amostra porosa foi determinada utilizando-se balança analítica, com dispositivo adequado para o método de Arquimedes (ASTM C373-88, 1999), que leva em consideração a massa seca, massa úmida e massa da amostra imersa em água.

A densidade aparente de uma amostra porosa pode ser determinada pelo método de Arquimedes, utilizando a seguinte equação:

$$P_{ap}^p = P_u - d_L V_L^p \quad (\text{Eq.1})$$

Onde, P_u é o peso da amostra porosa com os poros preenchidos pelo líquido e, V_L^p é o volume de líquido utilizado para preencher os poros, o qual pode ser calculado pela equação 2.

$$V_L^p = \frac{(P_u - P_{ap}^p)}{d_L} \quad (\text{Eq.2})$$

Portanto, para amostras porosas determinamos sua densidade aparente (d_{ap}^p) através da seguinte equação:

$$d_{ap}^p = \frac{P_c^p}{V_L^p} \quad (\text{Eq.3})$$

Onde P_c^p é peso da amostra porosa. Através da substituição dos valores de V_L^p da equação 3 na equação 2, obtemos o valor da densidade de uma amostra porosa d_c^p .

$$d_c^p = \left(\frac{m_c^p}{m_u - m_{ap}^p} \right) d_L \quad (\text{Eq.4-1})$$

onde m_c^p é a massa da amostra porosa seca, m_u é a massa da amostra porosa com os poros preenchidos com o líquido, m_{AP}^p é a massa aparente da amostra porosa (com os poros preenchidos pelo líquido) imersa em água, e d_L a densidade do líquido.

A porosidade aparente (P_{ap}), também chamada de porosidade aberta é determinada através da seguinte equação:

$$P_{ap} = \left(\frac{M_u - M_c}{M_u - M_{ap}} \right) * 100 \quad (\text{Eq.4-2})$$

onde M_c é a massa da amostra porosa seca, M_U é a massa da amostra porosa com os poros preenchidos com o líquido, M_{AP} é a massa aparente da amostra porosa (com os poros preenchidos pelo líquido) imersa em água.

✓ Difração de Raios-X (DRX)

O método de DRX é utilizado para identificar fases cristalinas em amostras sólidas. O difratograma padrão (posição das linhas de difração) é característico de cada substância. O difratograma de DRX fornece o ângulo entre os raios de incidência (θ) e o difratado na amostra (2θ). Utilizando a equação de Bragg (Equação 5) é possível determinar o espaçamento d (em Å).

$$2d = \text{sen } \theta \lambda \quad (\text{Eq. 5})$$

onde λ é o comprimento de onda da radiação utilizada.

O estudo estrutural por DRX foi feito com as amostras em pó, previamente secas, para verificação da manutenção da estrutura da HAP. Utilizamos um Difratômetro Rigaku, modelo Multiflex, com radiação Cu-K α ($\lambda=0,1542$ nm), com intervalo de varredura (2θ) na faixa de operação de 10-90°, passo de 0,02° e tempo de contagem de 8 segundos por passo, do Laboratório de Difração de Raios-X do Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais (CCTM) do IPEN-USP.

✓ Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A estrutura/morfologia dos hidrogéis compósitos foi visualizada usando Microscópio Eletrônico de Varredura MEV Philips-XL 30, equipado com detector de elétrons retroespalhados, do IPEN – USP. As micrografias dos hidrogéis intumescimentos foram feitas em Microscópio Eletrônico de Varredura modelo JEOL JSM-650, da Universidade Presbiteriana Mackenzie.

✓ Estudos de Intumescimento:

Os estudos de intumescimento dos hidrogéis biocompósitos foram realizados em água destilada em duas temperaturas, 25°C e 40°C. A amostra Hgel^{sq}0 foi utilizada para estudos de intumescimento em soluções aquosas contendo o fármaco AAS, nas concentrações de 0,005 mol L⁻¹, 0,01 mol L⁻¹ e 0,02 mol L⁻¹, a temperatura ambiente.

Para determinação do grau de intumescimento foi utilizada a Equação 6:

$$W(\%) = \left[\frac{(W_t - W_0)}{W_0} \right] * 100 \quad (\text{Eq.6})$$

onde W_t representa o peso do hidrogel no tempo t e W_0 o peso inicial do hidrogel Hgel^{sq}. (AOUADA, MUNIZ, *et al.*, 2009)

✓ Estudos de Liberação do Fármaco AAS

O estudo de liberação do fármaco AAS, pelo Hgel^{sq}, foi realizado em solução aquosa (pH 4,0) à temperatura ambiente (25°C). Analisou-se a quantidade de AAS liberada em função do tempo por espectroscopia UV-vis (Varian, modelo Cary 50) utilizando-se para o AAS λ_{max} de 296nm. A curva de calibração para o AAS foi preparada através de soluções aquosas de AAS com concentrações de 1200µM a 8000µM.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel^{se})

5.1.1 DETERMINAÇÃO DO PESO MOLECULAR

Os principais métodos de determinação do peso molecular médio são por viscosidade da solução, onde encontramos o peso molecular viscosimétrico M_v , e o método de Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), da qual obtemos o peso molecular numérico médio M_n e o peso molecular ponderal médio M_w .

O peso molecular médio da fração solúvel de PNIPAm foi determinado de duas formas distintas: para a amostra Hgel^{se0}, formada sem MBAAm, através do método de Viscosimetria e para as amostras Hgel^{se0}, Hgel^{se1}, Hgel^{se2} e Hgel^{se3} por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) da fração solúvel.

5.1.1.1 PESO MOLECULAR VISCOSIMÉTRICO

A viscosimetria é um método muito simples e fornece dados precisos e reprodutíveis. A viscosimetria de uma solução depende do polímero e do solvente, bem como a concentração da solução do polímero (MARK, 2006). A viscosimetria capilar é um dos métodos mais simples e mais utilizados para determinar a massa molecular viscosimétrica, M_v , de um polímero.

A partir das equações:

$$\eta_{rel} = t/t_0 \quad (\text{Eq. 7})$$

$$\eta_{esp} = \eta_{rel} - 1 \quad (\text{Eq. 8})$$

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{esp}}{c} \quad (\text{Eq.9})$$

podemos determinar a viscosidade intrínseca através de regressão linear da viscosidade reduzida versus concentração, extrapolando a concentração a zero. Nas equações temos que η_{rel} é a viscosidade relativa, η_{esp} é a viscosidade específica e η_{red} é a viscosidade reduzida (KREVELER e NIJENHUIS, 2009), (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001).

A viscosidade intrínseca de um polímero é relacionada ao peso molecular médio pela equação de Mark–Kuhn- Houwink–Sakurada (RIMMER, CARTER, *et al.*, 2007):

$$\eta = K M^a \quad (\text{Eq.10})$$

onde **K** e **a** são constantes para um dado sistema soluto-solvente a uma determinada temperatura e M o peso molecular médio do polímero.

Para cada concentração foram realizadas 10 tomadas de tempo, a média calculada e apresentada na Tabela 3.

Tabela 3: Concentração e médias dos tempos para as soluções de PNIPAm em água.

Solução	Concentração (g/L)	Tempo (s)
Água	2	$t_0 = 7,222$
1	0,04	7,898
2	0,08	8,562
3	0,2	9,952
4	0,4	10,082
5	0,8	8,089

. Calculando as viscosidades relativa, específica e reduzida (Equações 7, 8 e 9), obtemos:

Tabela 4: Viscosidades relativa, específica e reduzida para as amostras de PNIPAm em água.

Solução	$\eta_{rel} = t/t_0$	$H_{esp} = \eta_{rel} - 1$	$\eta_{red} = \eta_{esp} / C$
1	1,094	0,094	2,35
2	1,186	0,186	2,32
3	1,378	0,378	1,89
4	1,396	0,396	0,99
5	1,12	0,12	0,15

Traçando-se o gráfico η_{red} versus C (Figura 5-1), obtemos a viscosidade intrínseca η , na interseção da curva com o eixo y da viscosidade, sendo igual a **2,45536**:

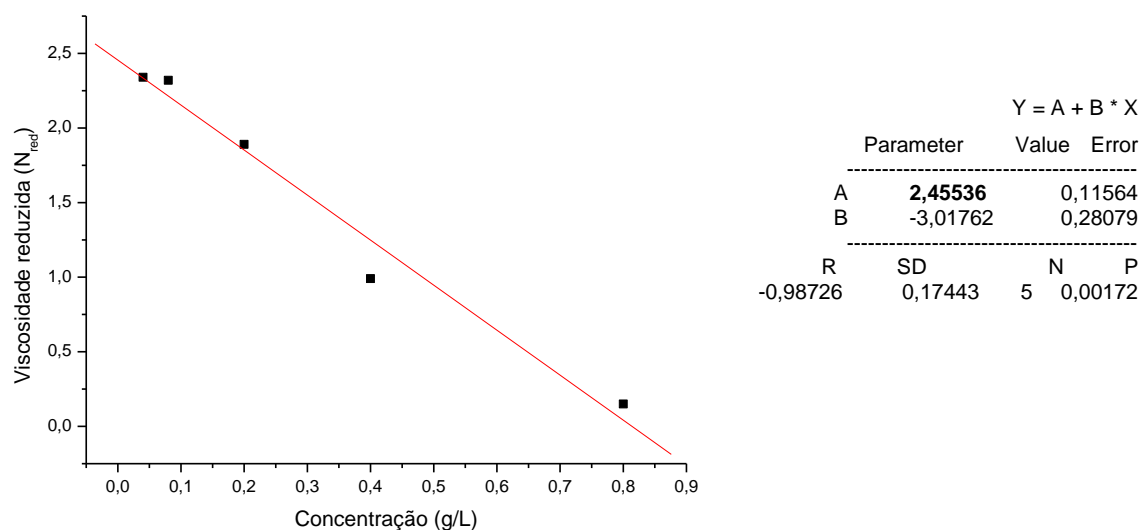


Figura 5-1: Viscosidade reduzida em função da concentração para o PNIPAm em água

Os valores das constantes K e a da equação de Mark-Kuhn- Houwink-Sakurada para o PNIPAm em solução aquosa, a 25°C, bem como o Peso Molecular Viscosimétrico médio obtido experimentalmente, segundo a mesma equação, encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5: Valores do peso molecular médio para o PNIPAm em água, segundo valores diferentes das constantes.

K (cm ³ /g)	a	M _v (Da)	Fonte
2,26 * 10 ⁻⁴	0,97	1,4*10 ⁴	(CHIANTORE, GUAITA e TROSSARELLI, 1979), (GANACHAUD, MONTEIRO, <i>et al.</i> , 2000), (MUNIZ e GEUSKENS, 2001)

5.1.1.2 PESO MOLECULAR POR GPC

A Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) ou Cromatografia de Exclusão por tamanho é um método de fracionamento em coluna baseado na separação por tamanho das moléculas de polímero em solução. O termo GPC origina-se dos diversos materiais usados dentro das colunas, os géis. Através do método GPC é possível a determinação simultânea do peso molecular numérico médio, do peso molecular ponderal médio e da distribuição de peso molecular (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001), (AKCELRUD, 2007). A literatura reporta que o método GPC utilizando THF e uma calibração baseada em poliestireno gera distribuições de peso molecular que está de acordo com outros métodos (GANACHAUD, MONTEIRO, *et al.*, 2000).

A

Figura 5-2 mostra a análise por GPC da fração solúvel dos hidrogéis PNIPAm (Hgel^{se}). Os valores de Mn, Mw e IP obtidos estão resumidos na Tabela 6.

Tabela 6: Valores do peso molecular e índice de polidispersão da fração solúvel dos hidrogéis.

Peso Molecular	Hgel ^{se} 0	Hgel ^{se} 1	Hgel ^{se} 2	Hgel ^{se} 3
Mn (g/mol)	3,327*10 ⁴	3,403*10 ⁴	4,419*10 ⁴	1,647*10 ⁶
Mw (g/mol)	2,373*10 ⁵	6,264*10 ⁵	1,096*10 ⁶	8,730*10 ⁶
IP (Mw/Mn)	7,13	18,41	24,8	5,30

Podemos observar na Tabela 6 que o peso molecular da fase solúvel aumenta com o aumento da concentração de MBAAm, como esperado.

A curva de distribuição do Hgel^{se}0 mostra um elevado índice de polidispersão IP= 7,13. Este valor de polidispersão é esperado na polimerização radicalar onde a propagação não é controlada e, portanto obtêm-se cadeias de diferentes comprimentos. Um alargamento da curva de distribuição de massa molecular, isto é, um aumento da polidispersão (razão entre Mw/Mn), é observado a medida em que se aumenta a concentração do agente reticulante MBAAm. Este comportamento é esperado, pois polímeros com ramificações apresentam altos índices de polidispersão (CANEVAROLO JR, 2004). Contrariamente, a rede entrecruzada formada no sistema Hgel^{se}3 apresenta índice de polidispersão menor, em torno de 5. Porém, a curva de distribuição de GPC mostra um ligeiro alargamento para altos valores de peso molecular, o que sugere uma distribuição bimodal.

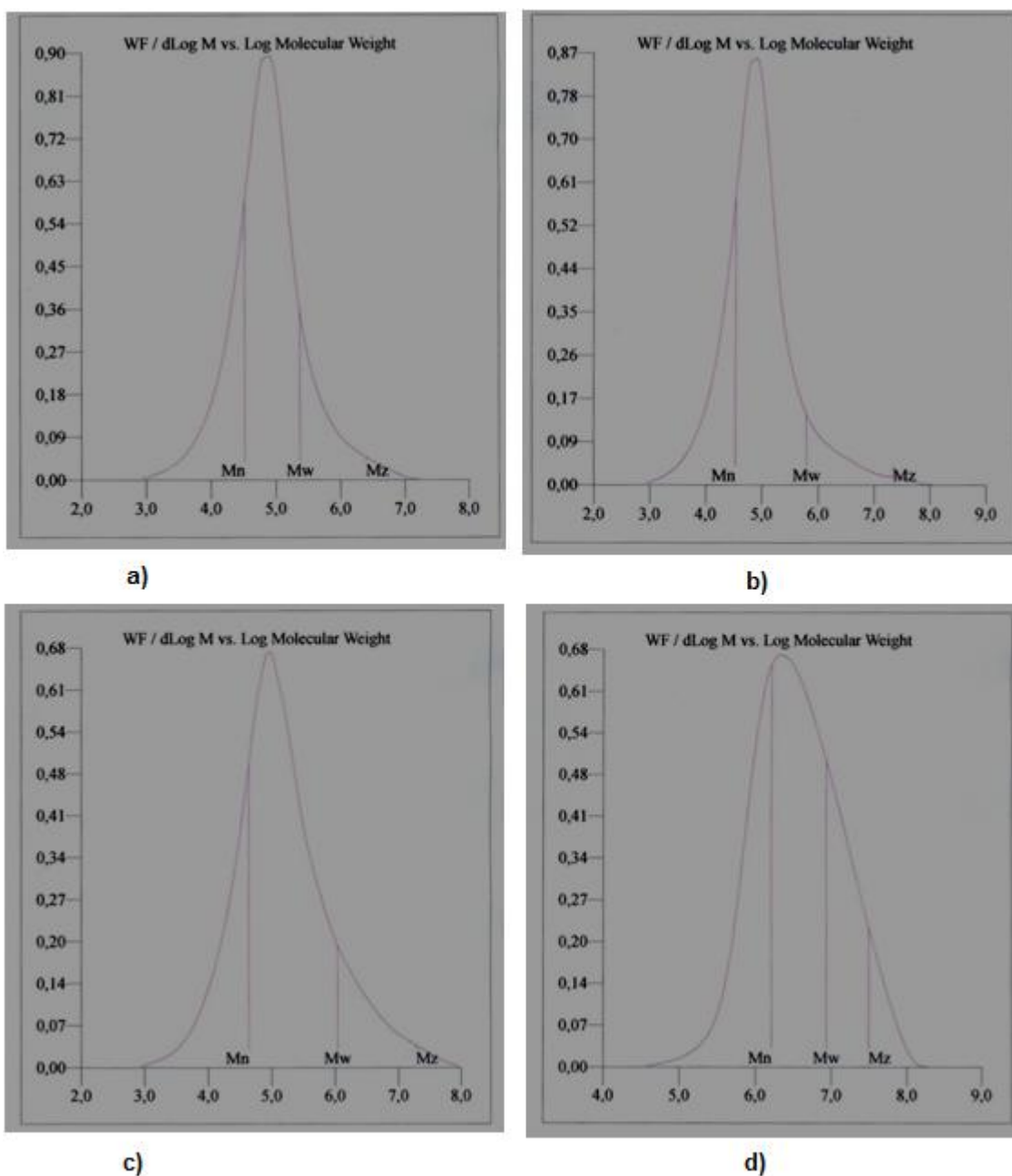


Figura 5-2: Curvas de distribuição do peso molecular a) Hgel^{se0}; b)Hgel^{se1}; c)Hgel^{se2} e d) Hgel^{se3}

5.1.2 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA (FTIR)

O monômero NIPAm, cuja representação da estrutura química pode ser visualizada na **Erro! Fonte de referência não encontrada**. caracteriza-se por uma ligação dupla entre os carbonos. A dupla ligação C=C é caracterizada no espectro

Infravermelho por uma banda de vibração a 1620 cm^{-1} , corresponde a deformação axial, em evidência na Figura 5-3 , que apresenta o espectro FTIR do monômero NIPAm.

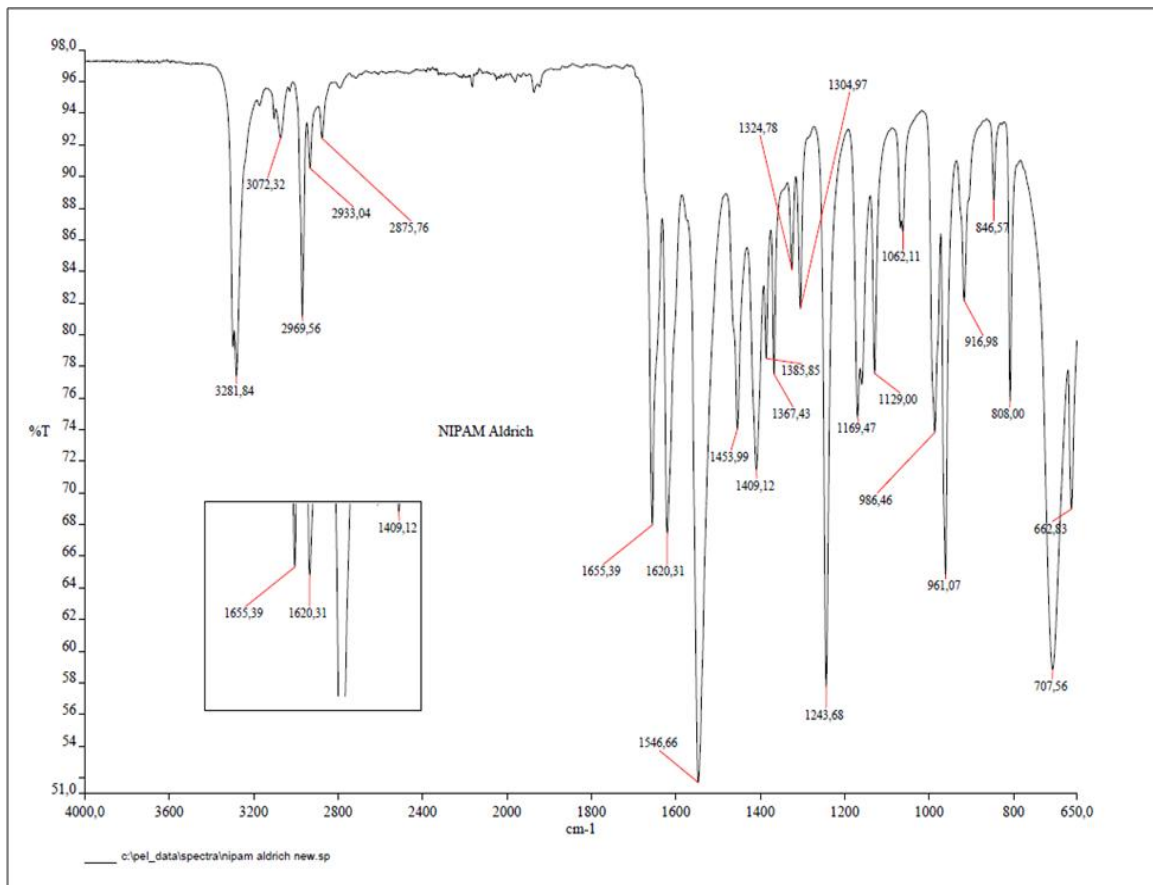


Figura 5-3: FTIR do monômero NIPAm. Em destaque, banda em 1620cm^{-1} , relativa à ligação C=C.

A Figura 5-4 mostra o espectro de FTIR do Hgel^{se0}. Ao compararmos o espectro do monômero NIPAm (Figura 5-3) com o espectro do Hgel^{se0} (Figura 5-4) podemos observar diferenças significativas. O monômero apresenta bandas de vibração de deformação axial de C=C em aproximadamente 1620 cm^{-1} e, além disso, bandas características de grupos vinílicos em 1305 e 1325 cm^{-1} e em 990 e 916 cm^{-1} referentes às vibrações de deformação angular, que não são observadas no espectro do Hgel^{se0}.

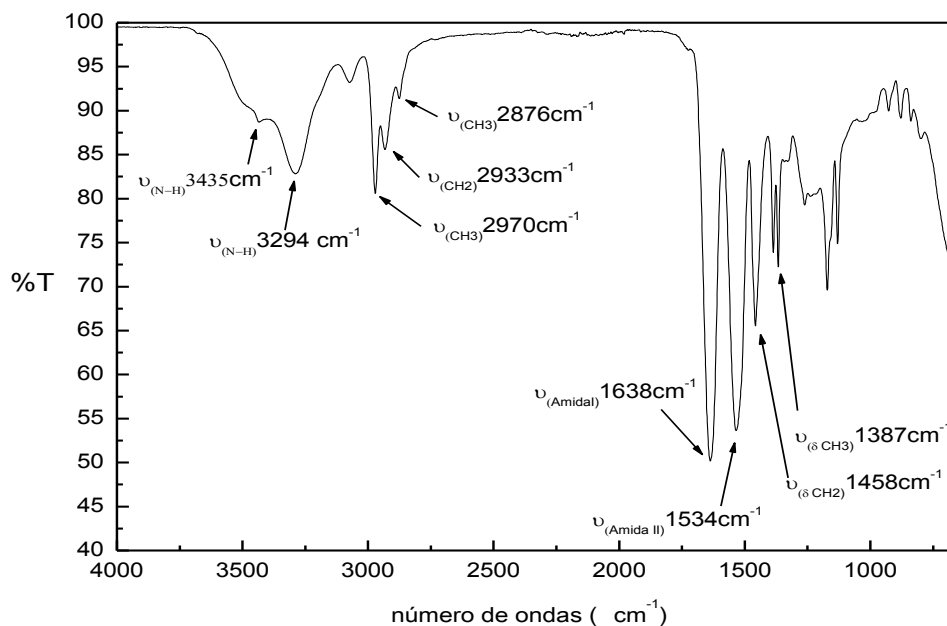


Figura 5-4: FTIR da amostra Hgel^{se0}

No polímero formado, Figura 5-4, observa-se uma banda larga na região entre 3350-3700 cm^{-1} , que não é observada no espectro do monômero, característica de vibrações de estiramento da ligação O-H, devido a sua maior afinidade pela água quando comparado ao monômero (SOUSA, 2009), (JAISWAL, BANERJEE, *et al.*, 2010). A ligação OH não está presente no polímero e seu aparecimento pode estar relacionado à presença de água na amostra utilizada. A ausência da banda de vibração da dupla ligação C=C (olefínica) presente em 1620 cm^{-1} no monômero NIPAm, bem como todas as diferenças apresentadas, confirmam a polimerização e a consequente eficácia do método eletroiniciado utilizado.

No espectro do Hgel^{se0} (Figura 5-4) podemos observar uma banda em torno de 1638 cm^{-1} (Amida I) que corresponde ao estiramento de grupos carbonila de amidas, que nas amidas aparece a frequências notavelmente baixas devido ao efeito mesomérico (+M) do nitrogênio e, as associações de ligações de hidrogênio (WU e SIESLER, 1999), (MAEDA, HIGUCHI e IKEDA, 2000). A banda da

vibração carbonílica $\nu_{C=O}$ em amidas é chamada de banda Amida I devido ao acoplamento com osciladores vizinhos, especialmente à banda ν_{NH} .

A banda em torno de 1534 cm^{-1} relaciona-se ao modo de estiramento simétrico de N-H de amidas. No intervalo de frequências de $1390\text{-}1370\text{ cm}^{-1}$ aparecem bandas que são características de deformação no plano de isopropilas. As bandas de absorção na região de $2875\text{-}2972\text{ cm}^{-1}$ são referentes aos modos de vibração de estiramento CH₃ e CH₂ de hidrocarbonetos alifáticos. As bandas de estiramento de N-H de amidas secundárias mostram-se na região de $3170\text{-}3370\text{ cm}^{-1}$.

A Figura 5-5 mostra todos os assinalamentos das bandas características do PNIPAm e a Tabela 7 resume as bandas características do PNIPAm encontradas na literatura e neste trabalho, bem como os correspondentes números de onda (SUN, LIN e WU, 2007).

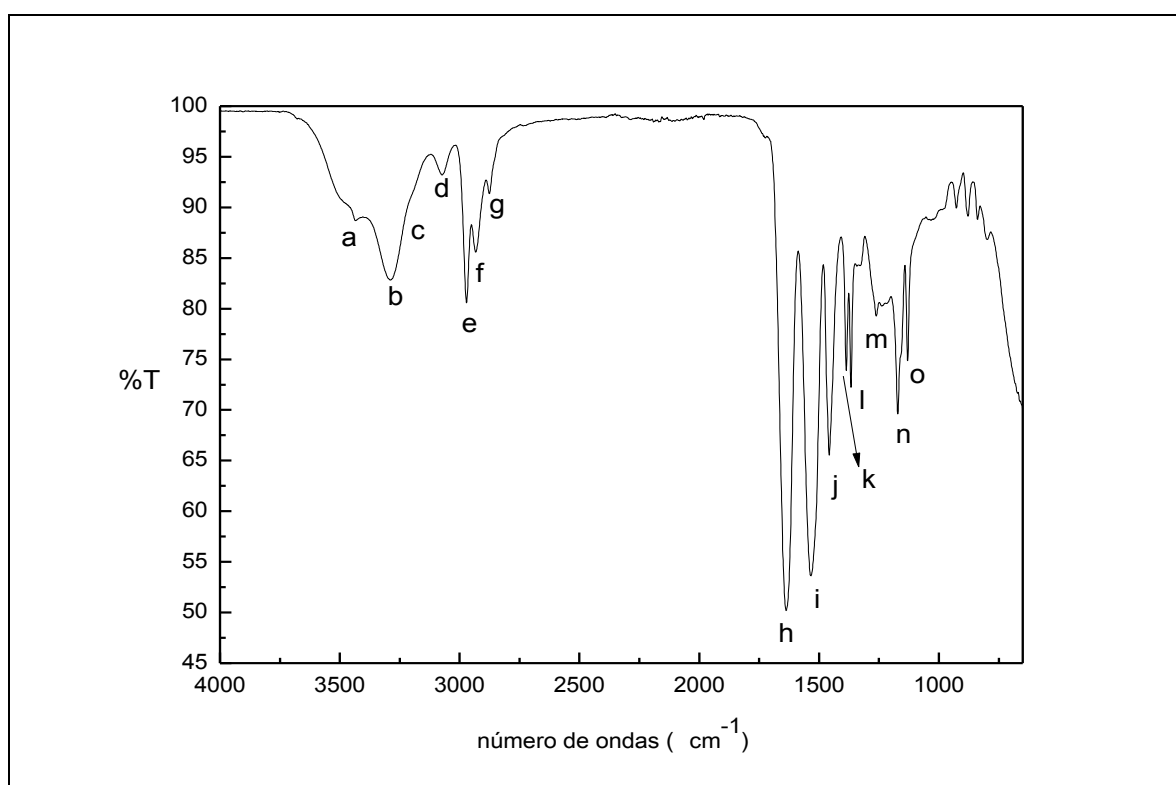


Figura 5-5: FTIR do homopolímero Hgelse0 – Assinalamentos das bandas características do PNIPAm.

Tabela 7: Assinalamento das bandas características do PNIPAm encontradas na literatura e experimentalmente

	Literatura (cm^{-1})	Experimental (cm^{-1})	Banda correspondente
a	3437	3435	$\nu(\text{N-H})$
b	3310	3294	$\nu(\text{N-H})$
c	3190	3223	Amida I + Amida II
d	3095	3074	Amida B
e	2968	2970	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$
f	2929	2933	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
g	2874	2876	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
h	1646	1638	Amida I
i	1546	1534	Amida II
j	1458	1458	$\delta_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
k	1387	1393	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
L	1368	1387	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
m	1280	1256	Amida III
n	1173	1179	CH_3 (skeletal)
o	1132	1128	CH_3 (rocking)

A Figura 5-6 mostra, comparativamente, o espectro FTIR do Hgel^{se}0 e os demais hidrogéis (Hgel^{se}1,2 e 3). Observa-se que os espectros são semelhantes. A diferença entre o monômero (NIPAm) e o agente reticulante MBAAm consiste:

- Funcionalidade: o MBAAm é tetrafuncional (dois grupos vinílicos), enquanto o NIPAm é bifuncional (um grupo vinílico);
- Grupo funcional amida: o MBAAm possui dois grupos amida e o monômero NIPAm tem apenas um;
- O NIPAm tem ligado um grupo isopropil [$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$], enquanto o MBAAm tem entre os dois grupos amidas um grupo metileno ($-\text{CH}_2-$).

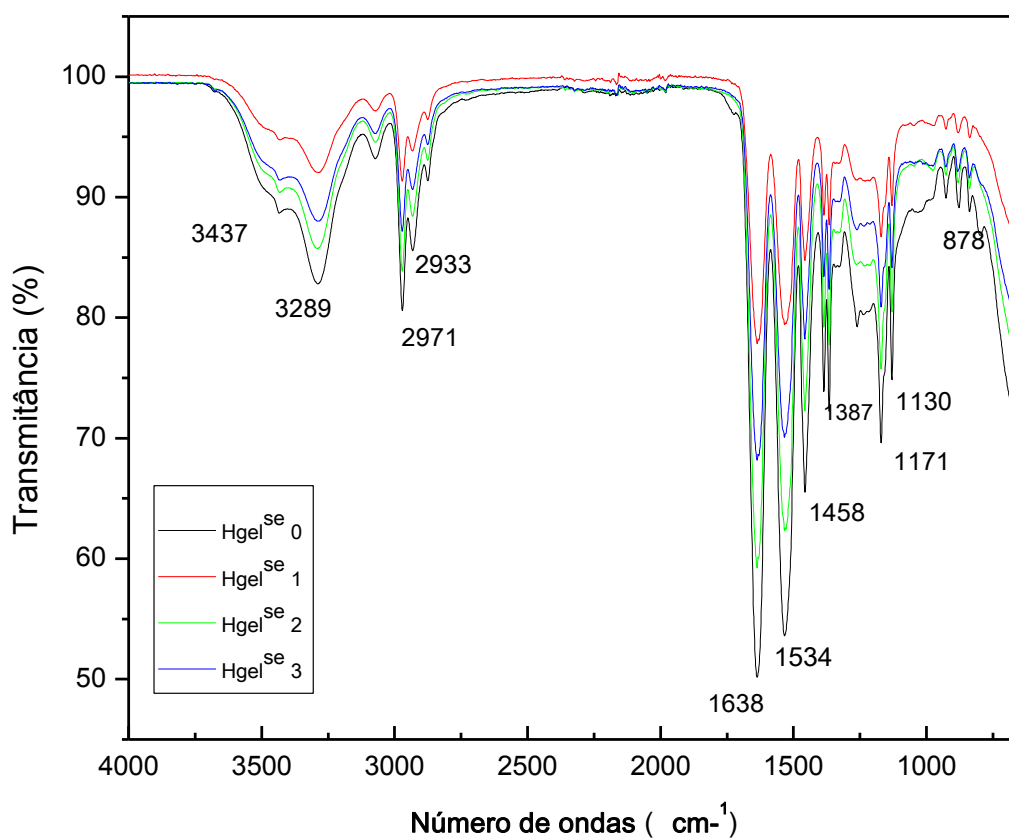
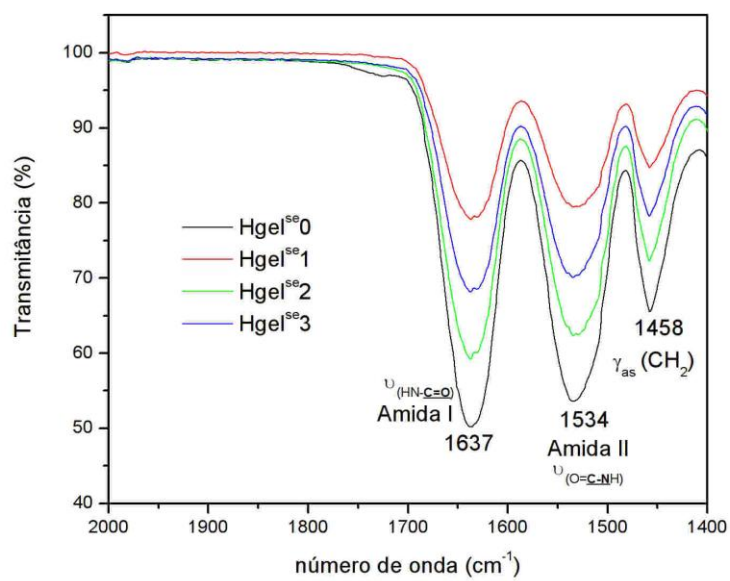
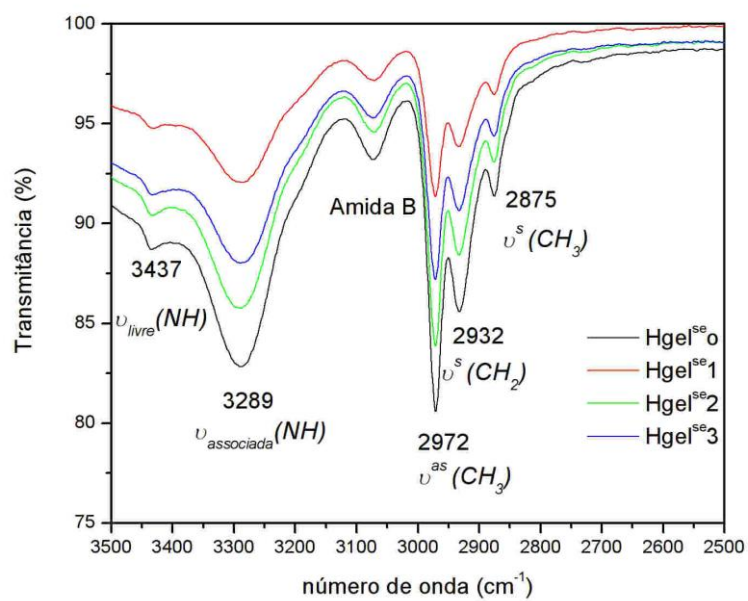


Figura 5-6: FTIR dos hidrogéis de PNIPAm obtidos

Assim, considerando que o MBAAm tem maior funcionalidade, age como reticulante (crosslink), estabelecendo uma rede entrecruzada. Para melhor assinalar as bandas dos espectros dos hidrogéis da Figura 5-6, separamos o espectro em diferentes regiões.



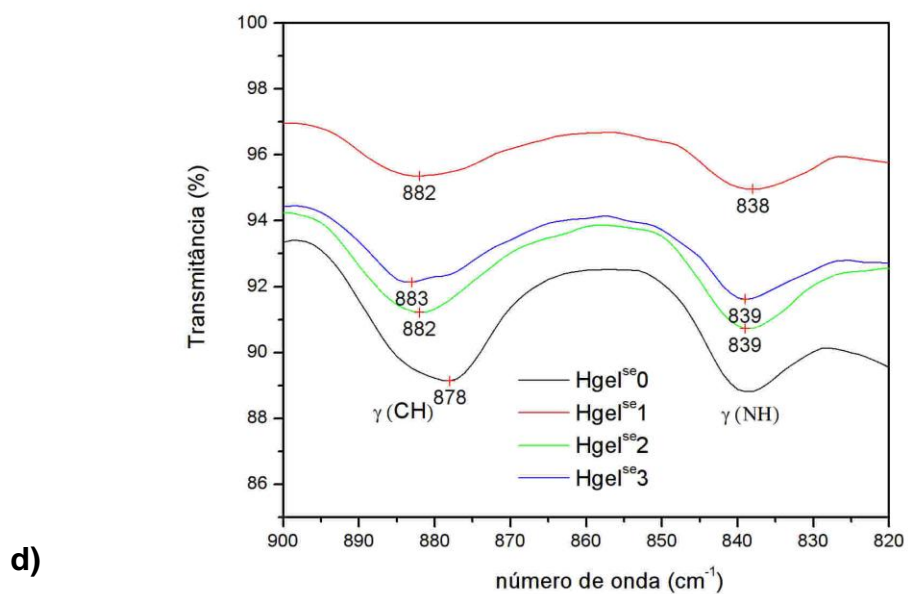
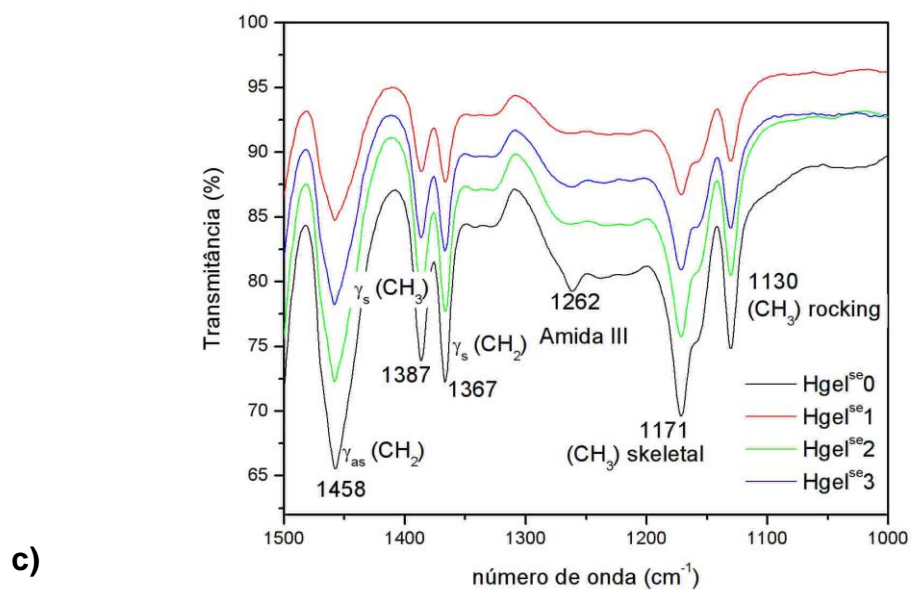
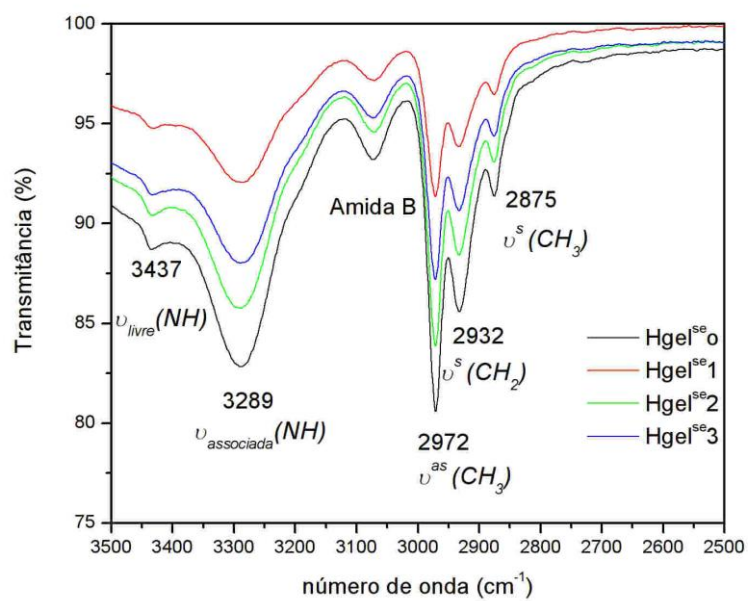


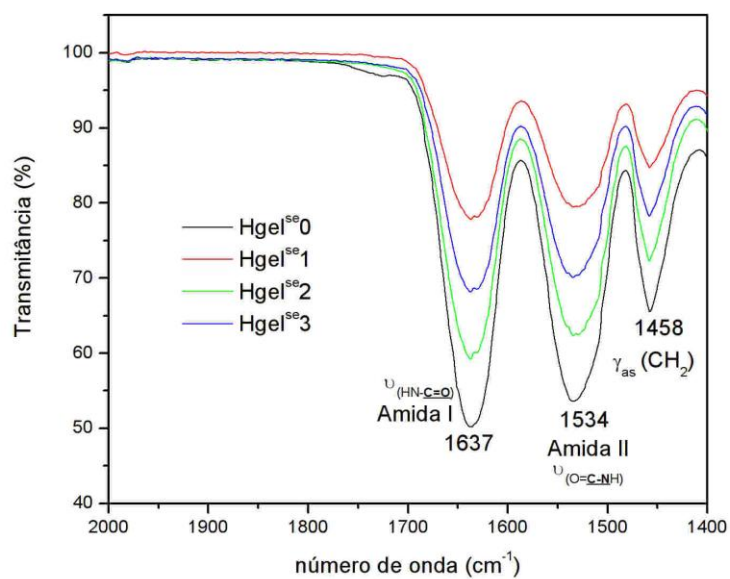
Figura 5-7: Espectro FTIR dos hidrogéis obtidos a) de 2500 a 3500 cm^{-1} ; b) de 1400 a 2000 cm^{-1} ; c) de 1000 a 1500 cm^{-1} e d) 820 a 900 cm^{-1}

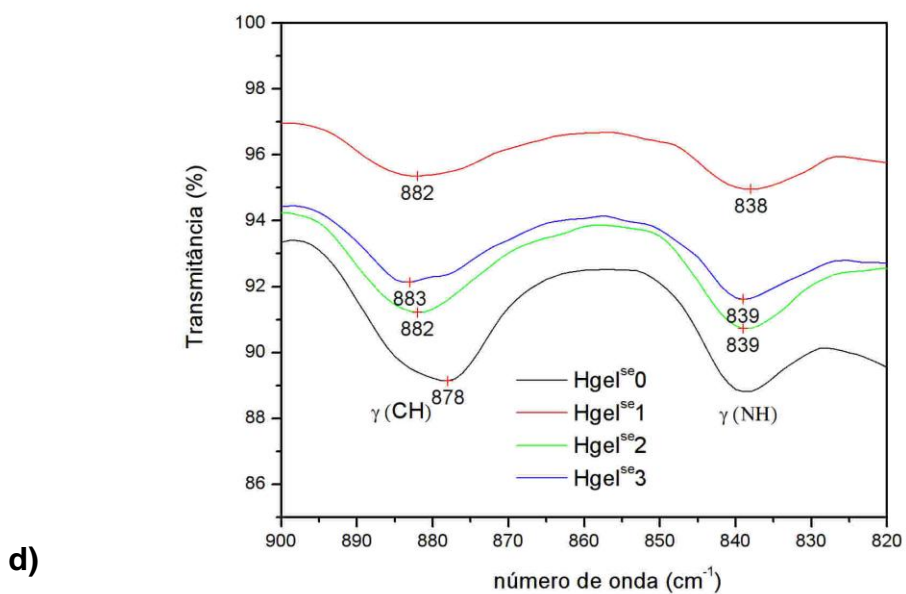
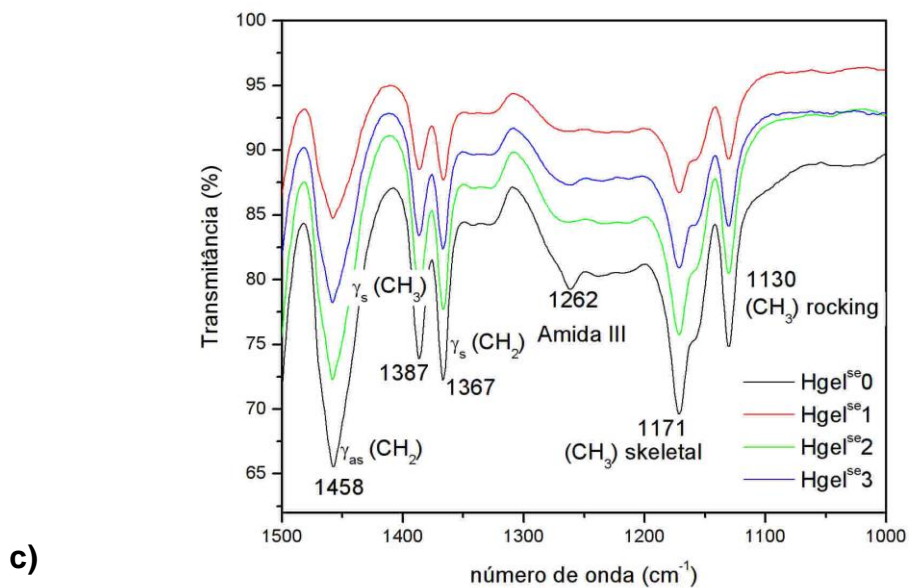
Na faixa 820 a 900 cm^{-1} se observa o deslocamento da banda relativa à vibração da ligação C-H. Esta banda no Hgel^{se0} é observada em 878 cm^{-1} , enquanto nos demais hidrogéis desloca-se para números de onda maiores, como pode ser visto na

a)



b)





d, apresentando-se em 882 e 883 cm^{-1} . Isto pode ser explicado pelo entorno químico do grupo isopropil $-(\text{CH}_3)_2\text{C-H}$, que muda nos hidrogéis Hgel^{se1}, 2 e 3, devido à proximidade de dois grupos amida que interagem com o grupo isopropil, fortalecendo a ligação (C-H). A constante de força de uma ligação é diretamente

proporcional ao número de onda e portanto, nos hidrogéis entrecruzados Hgel^{se1}, 2 e 3, o número de onda da vibração C-H aumenta.

A técnica de FTIR é semiquantitativa permitindo, assim, obter informação da concentração de determinada espécie. Para demonstrar que o hidrogel foi formado, estabelecendo-se assim uma rede entrecruzada, realizamos o estudo da banda relativa à vibração da ligação $-(CH_3)_2C-H$, do grupo isopropil. Este grupo não está presente no MBAAm e desta maneira sua concentração deve diminuir nos hidrogéis Hgel^{se1}, 2 e 3 em relação ao hidrogel Hgel^{se0}. Para realizar este estudo, escolhemos a banda Amida I. Portanto, a razão entre a área da banda Amida I e a área da banda do grupo isopropil deverá aumentar nos hidrogéis Hgel^{se1}, 2 e 3 em relação ao hidrogel Hgel^{se0}.

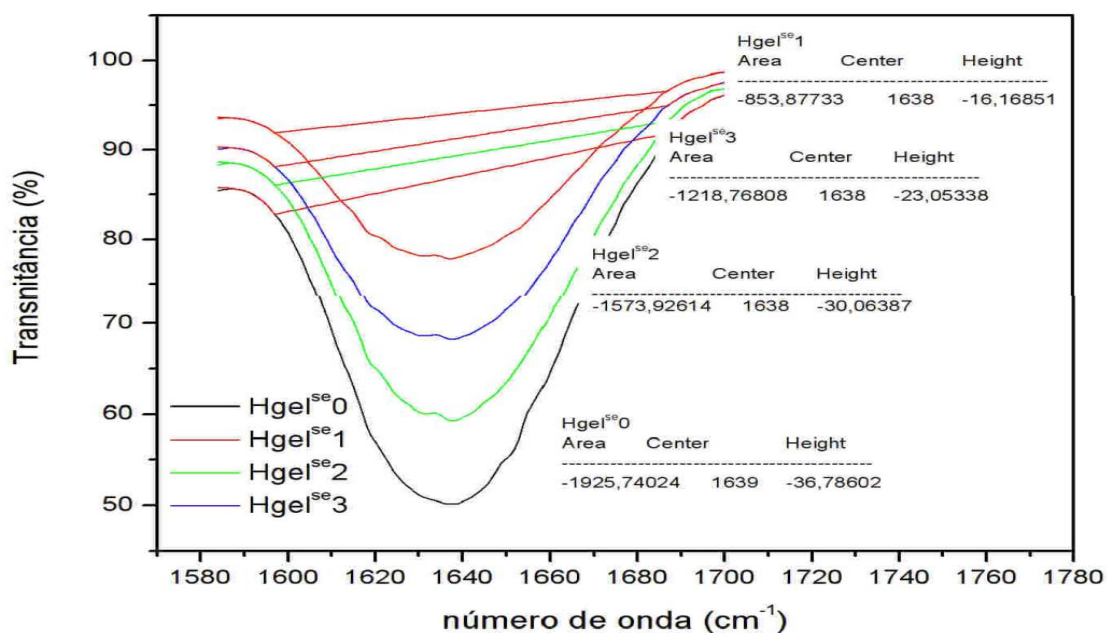


Figura 5-8: Áreas da banda relativa à vibração da ligação Amida I (em 1638 cm^{-1}) para os hidrogéis.

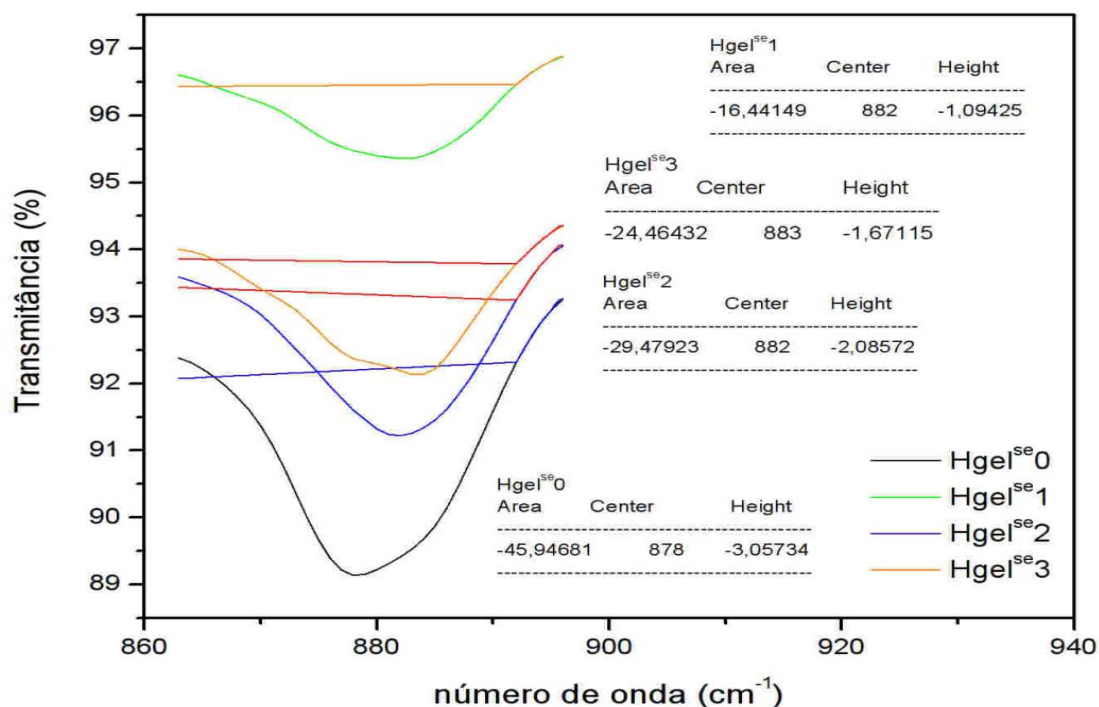


Figura 5-9: Área da banda relativa a vibração da ligação isopropil dos hidrogéis.

A Figura 5-8 e a Figura 5-9 mostram as áreas das bandas ($\text{HNC}=\text{O}$) e $-(\text{CH}_3)_2\text{C}-\text{H}$ para todos os hidrogéis. Os valores da razão entre as áreas das respectivas bandas são resumidos na Tabela 8.

Tabela 8: Determinação da razão entre as áreas das bandas 1638 cm^{-1} e 878 cm^{-1} (ou 883 cm^{-1}) representadas nas Figuras 5-11 e 5-12.

	Hgel ^{se0}	Hgel ^{se1}	Hgel ^{se2}	Hgel ^{se3}
Razão (C=O/CH)	42	52	53	50

Observa-se na Tabela 8 que a razão entre as áreas das respectivas bandas aumenta consideravelmente nos hidrogéis Hgel^{se1}, 2 e 3 em relação ao Hgel^{se0}, demonstrando que a reação de polimerização aconteceu e que os hidrogéis Hgel^{se1}, Hgel^{se2}, Hgel^{se3} formaram redes entrecruzadas.

5.1.3 ANÁLISE TÉRMICA

5.1.3.1 TERMOGRAVIMETRIA (TGA)

A análise termogravimétrica do Hgel^{se0} é mostrada na Figura 5-10. Podemos observar que ocorre uma pequena perda de massa, em torno de 15% da massa total, possivelmente devido a presença de água na estrutura do hidrogel. A temperatura de degradação da cadeia polimérica acontece em torno de 410^oC. A literatura reporta temperaturas de degradação para o PNIPAm entre 423 (FEIJÓ, MAGALHAES, *et al.*, 1999) e 431^oC (SOUSA, MAGALHAES e FREITAS, 1998), (ALLI e HAZER, 2008). A 450^oC ocorre a completa degradação do hidrogel.

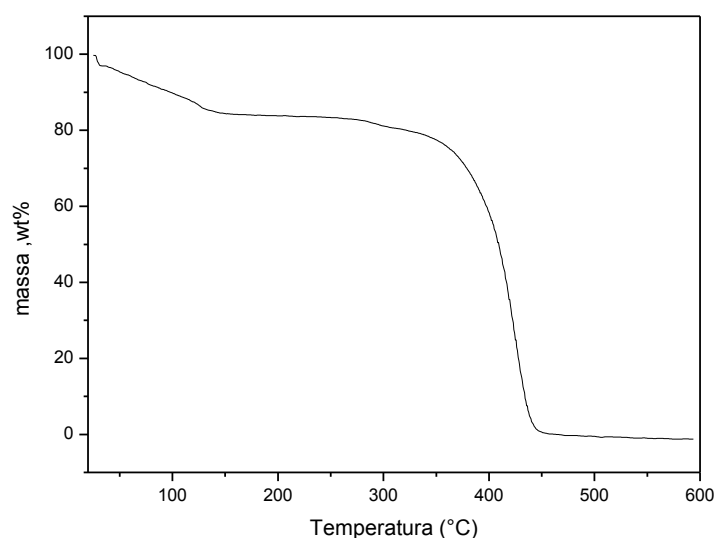


Figura 5-10: Curva TGA para o hidrogel Hgel^{se0}.

5.1.3.2 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Um polímero pode existir em três estados físicos: vítreo, altamente elástico e fluido viscoso. A passagem de estado físico a outro não ocorre a uma temperatura definida, mas em certo intervalo de temperaturas onde existe uma variação gradual nas propriedades termodinâmicas do material e nestes casos, os valores

médios da temperatura são denominados de temperatura de transição. A transição do estado vítreo para o altamente elástico é denominado de temperatura de transição vítrea (T_g), sendo uma transição de fase de segunda ordem.

A T_g pode ser medida por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), uma técnica capaz de medir a diferença entre uma referência e uma amostra ao submetê-las a uma mudança controlada de temperatura. A técnica de DSC é capaz de medir e registrar quaisquer eventos térmicos que ocorram, incluindo reações químicas, transições físicas. Neste caso, na transição de fase correspondente a transição vítrea, a técnica DSC exibe uma resposta endotérmica correspondente a uma variação na capacidade calorífica do material (DA SILVA, 2008). A Figura 5-11 mostra as curvas DSC obtidas para os hidrogéis.

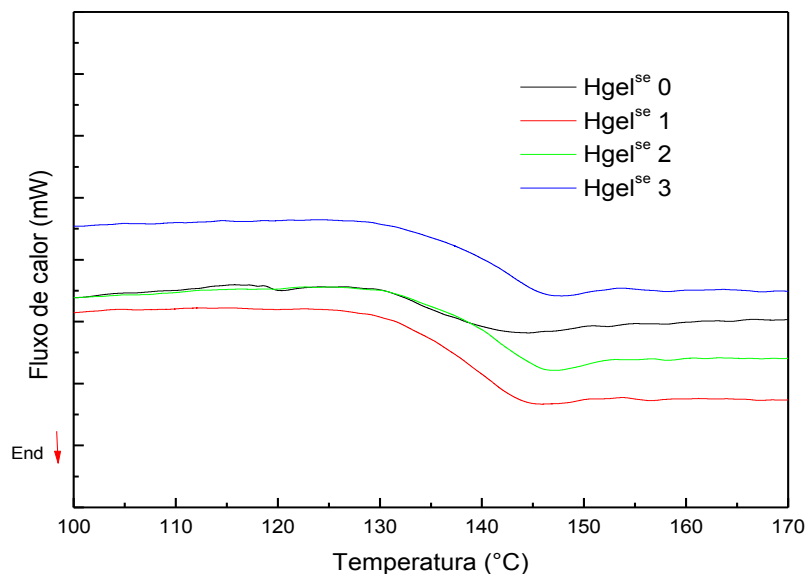


Figura 5-11: Curvas DSC para os hidrogéis Hgel^{se} obtidos

Os valores da T_g encontradas estão resumidos na Tabela 9. O valor da T_g encontrado para os hidrogéis de PNIPAm sintetizados eletroquimicamente estão

de acordo com os valores reportados na literatura, que podem variar entre 85 e 145°C, dependendo da composição do polímero (SOUSA, MAGALHAES e FREITAS, 1998). Estudos tem mostrado que o PNIPAm não reticulado, neste caso o Hgel^{se0}, e o PNIPAm levemente reticulado, como o caso do Hgel^{se1}, tem valores de Tg similares, assim como encontrado neste trabalho (COUGHLAN e CORRIGAN, 2006).

Tabela 9: Valores da Tg para os hidrogéis Hgel^{se} obtidos

	Hgel ^{se0}	Hgel ^{se1}	Hgel ^{se2}	Hgel ^{se3}
Tg (°C) onset	128	129	131	131
Tg (°C) médio	134,5	137,5	139	139,5

A flexibilidade da cadeia polimérica é a principal característica estrutural que define a temperatura de transição vítrea, uma vez que afeta diretamente a mobilidade segmental. Podemos observar na Tabela 9 e na Figura 5-12 que a medida que aumenta a razão molar do agente reticulante, o MBAAm, a Tg do hidrogel aumenta. Esse comportamento pode ser entendido pela mobilidade das cadeias poliméricas, que diminui conforme se aumenta a razão de MBAAm e pela maior densidade da rede polimérica, que também aumenta com o aumento da razão de MBAAm. A mobilidade é característica da transição vítrea, devendo, então, ser alcançada a temperaturas mais altas (FEIJÓ, MAGALHAES, *et al.*, 1999).

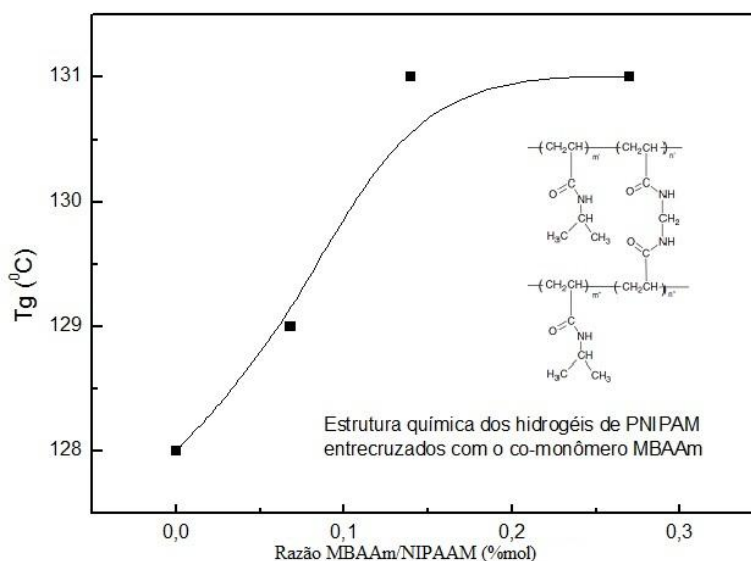


Figura 5-12: Relação entre a Tg dos hidrogéis e a razão molar MBAAm/PNIPAm. Em destaque a estrutura química dos hidrogéis obtidos

5.1.4 MEDIDAS DE TRANSMITÂNCIA

A determinação da temperatura de transição de fase relativa à expansão – contração das cadeias poliméricas, denominado Temperatura de Solução Crítica Inferior (LCST), foi realizado como descrito na parte experimental. Em temperaturas abaixo da LCST os hidrogéis estão na conformação expandida podendo ser solubilizados, dispersos ou intumescidos até o equilíbrio em soluções aquosas. À medida que a temperatura é elevada o gel se contrai, passando por uma transição de fase descontínua. O PNIPAm possui LCST em torno de 32°C, sendo que este valor pode ser alterado pela incorporação de comonômeros, sais, etc (EECKMAN, MOES e AMIGHI, 2004), (LAI e WU, 2010), (GUAN e ZHANG, 2011).

O uso da espectroscopia para determinação da LCST foi reportada por Schild, em 1992, como um dos métodos mais utilizadas por pesquisadores, permitindo a visualização do ponto de transição em consequência da precipitação do polímero quando ocorre a separação de fase (SCHILD, 1992).

A Figura 5-13 mostra as curvas de Transmissão pela Temperatura das soluções aquosas dos hidrogéis PNIPAm ($Hgel^{se}$), na faixa de temperatura de 20 a 45°C. Definimos erro padrão de 0,3°C. O comprimento de onda de 500nm tem sido usado para a determinação da LCST por Eeckman e colaboradores em suas diversas pesquisas com PNIPAm (EECKMAN, AMIGHI e MOES, 2001). Para o homopolímero, Eeckman encontrou um valor de temperatura de transição LCST de 32,4°C (EECKMAN, MOES e AMIGHI, 2004). Como pode ser visto na Figura 5-13, encontramos um valor correspondente para o homopolímero $Hgel^{se0}$, $32,2 \pm 0,3^\circ C$.

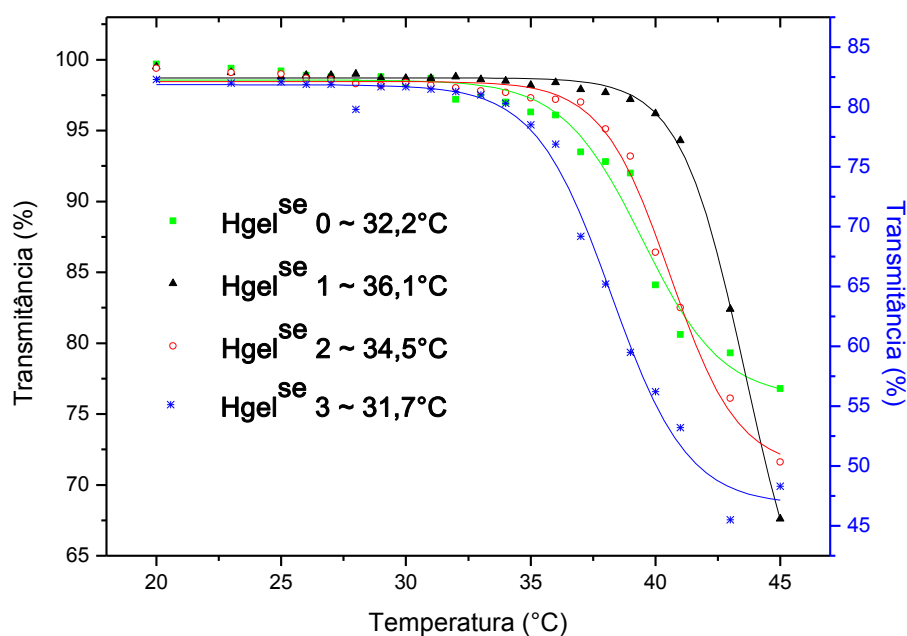


Figura 5-13: LCST dos hidrogéis $Hgel^{se}$ obtidos

Observa-se que a temperatura de transição térmica (LCST) tem valor maior para os hidrogéis $Hgel^{se1}$ e 2, e valor ligeiramente inferior para o hidrogel $Hgel^{se3}$ em relação ao $Hgel^{se0}$, sendo igual levando em consideração o erro padrão. Este comportamento é esperado, devido à estrutura química do MBAAm, que possui um grupo metil entre dois grupos amidas, enquanto o NIPAm tem um grupo isopropil, grupo volumoso, que impede estericamente a interação das moléculas

de água com o grupo amida. Desta maneira nas redes poliméricas entrecruzadas, contendo MBAAm, a interação com água se mantém até temperaturas mais elevadas e portanto, as cadeias permanecem na conformação estendida, acontecendo a transição de fase a temperaturas mais altas (ESCOBAR, GARCÍA, *et al.*, 2003), (WEI, ZHANG, *et al.*, 2006).

Em seguida com o aumento de densidade da rede entrecruzada, Hgel^{se}2 e Hgel^{se}3, a temperatura de transição diminui o que sugere que o efeito estérico próprio de uma rede predomina, dificultando a interação da água com os agrupamento hidrofílicos do co-monômero.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS DE PNIPAm/HAP (H_{gel}^{sq})

5.2.1 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA (FTIR)

A Figura 5-14 e a Figura 5-15 mostram o espectro FTIR do hidrogel H_{gel}^{sq} preparado pela polimerização química radicalar, iniciada pelo sistema redox APS-TEMED a temperatura ambiente. Comparativamente, são mostrados os espectros FTIR dos biocompósitos.

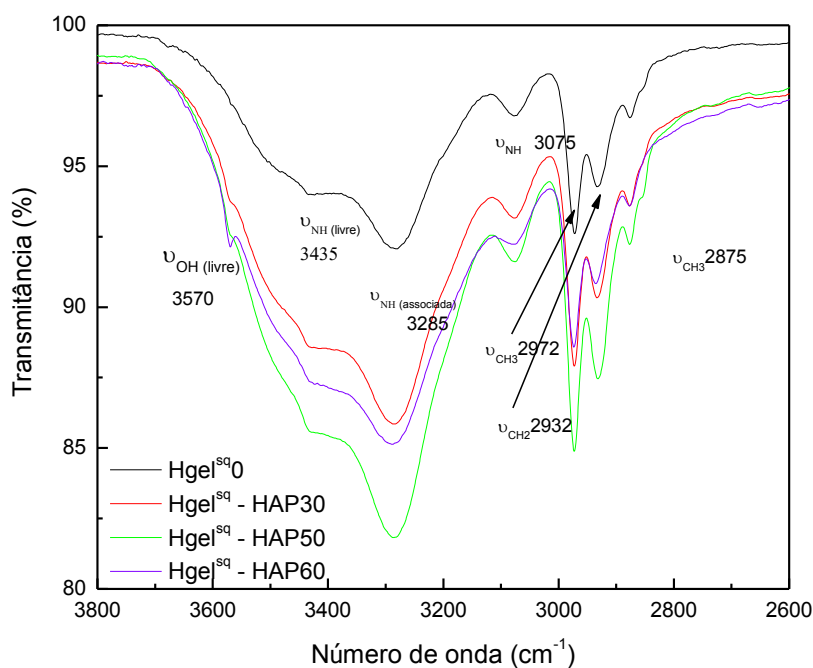


Figura 5-14: Espectro FTIR comparativo do H_{gel}^{sq} , e dos biocompósitos H_{gel}^{sq} -HAP30, H_{gel}^{sq} -HAP50, H_{gel}^{sq} -HAP60, na faixa de 4000 até 2700 cm^{-1}

Podemos observar que não existem mudanças significativas nas bandas de vibração dos biocompósitos em relação ao H_{gel}^{sq} . Podemos destacar que devido á alta velocidade da reação de iniciação, somada à alta velocidade de

propagação dos monômeros, formando-se a rede polimérica entrecruzada no tempo máximo de 10 minutos, a hidroxiapatita não sofre hidrólise ácida. Também não acontece reação química entre a HAP e o hidrogel durante a polimerização. A banda de vibração ($\sim 3570\text{ cm}^{-1}$) da ligação -O-H livre é observada nos biocompósitos, e com maior intensidade naquele que apresenta o maior teor de hidroxiapatita, Hgel^{sq}-HAP60.

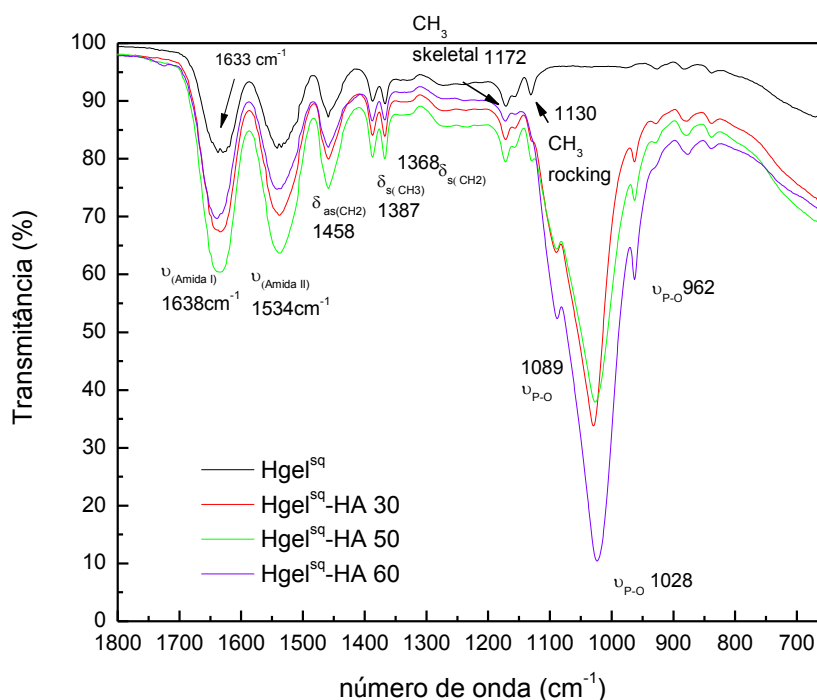


Figura 5-15: Espectro FTIR-ATR comparativo do Hgel^{sq}0, e dos biocompósitos Hgel^{sq}-HAP30, Hgel^{sq}-HAP50, Hgel^{sq}-HAP60, na faixa de 1800 até 700 cm^{-1}

Observamos também na Figura 5-15 as bandas relativas às vibrações de estiramento da ligação P-O do grupo fosfato. Também é possível identificar um ligeiro deslocamento da banda Amida I nos biocompósitos em relação ao hidrogel puro Hgel^{sq}0, o que sugere a existência de interação física entre a rede do hidrogel e a hidroxiapatita.

5.2.2 TERMOGRAVIMETRIA (TGA)

A Figura 5-16 representa as curvas de perda de massa do Hgel^{sq}0 e dos biocompósitos Hgel^{sq}-HAP30 e Hgel^{sq}-HAP50 e Hgel^{sq}-HAP60.

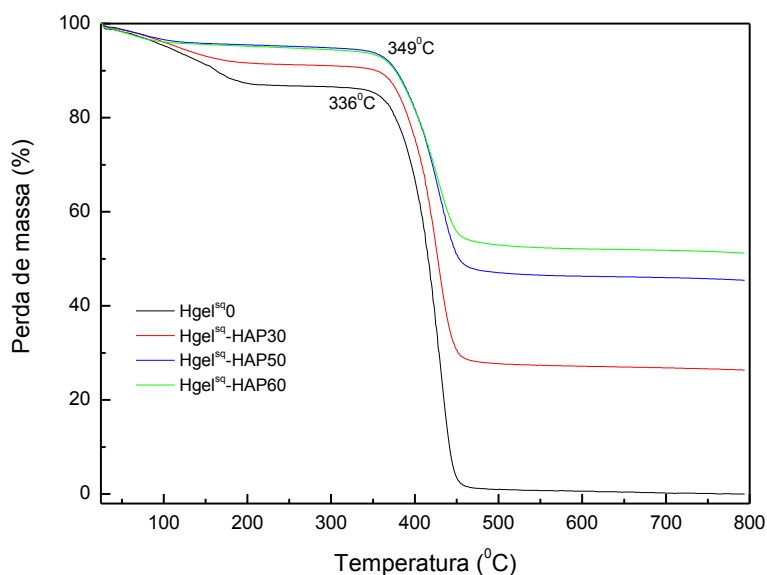


Figura 5-16: Curva de perda de massa em função da temperatura para o Hgel^{sq}0 e os biocompósitos Hgel^{sq}-HAP30, Hgel^{sq}-HAP50, Hgel^{sq}-HAP60, na faixa de 25 a 800 °C

Observamos que a presença de HAP no biocompósito influencia na temperatura de degradação da cadeia polimérica, que aumenta ligeiramente com a presença da HAP. Podemos observar que o Hidrogel puro, Hgel^{sq}0, contém elevado teor de água, devido ao elevado caráter hidrofílico do hidrogel, que pode reter água através de ligações físicas de alto alcance como é a ligação de ponte de hidrogênio. Observamos na Figura 5-16 e de maneira resumida na Tabela 10 o resíduo de HAP nos biocompósitos, valor que corresponde exatamente ao teor adicionando inicialmente durante a polimerização “in situ” dos hidrogéis.

Tabela 10: Assinalamento das regiões de perda de massa registradas na curva de TGA

Amostra	Perda de Umidade (%) T<110 ⁰ C	Conteúdo de H ₂ O (%) 110-300 ⁰ C	Conteúdo de polímero (%) 300 - 478 ⁰ C	Conteúdo de HAP (resíduo) (%)
Hgel ^{sq} 0	5,5	8,0	86,5	0
Hgel ^{sq} – HAP 30	4,6	4,4	62,9	28,1
Hgel ^{sq} – HAP 50	3,7	1,5	47,3	47,5
Hgel ^{sq} – HAP 60	4,1	1,5	40,9	53,5

5.2.3 ANÁLISE DA DENSIDADE EM MATERIAIS POROSOS POR ARQUIMEDES

A rigor, qualquer sólido apresenta um grau de porosidade, detectável ou não, resultante da presença de cavidades, canais ou interstícios. A porosidade de um material exerce influência sobre suas propriedades físicas, tais como: densidade, condutividade térmica e resistência mecânica.

A Tabela 11 mostra, comparativamente, a densidade teórica (Regra das Misturas, Equação 11 (CALLISTER JR, 2008)), a densidade geométrica (razão entre massa e volume) e a densidade aparente (método de Arquimedes) determinadas para os hidrogéis e biocompósitos porosos. Podemos observar que a densidade das amostras aumenta na medida em que aumentamos a concentração de HAP no biocompósito.

$$d_t = X_{v(Hgel)} d_{Hgel} + X_{v(HAP)} d_{HAP} \quad (\text{Eq.11})$$

Onde $d_{Hgel} = 1,1 \text{ g/cm}^3$ (REUFER, DÍAZ-LEYVA, *et al.*, 2009) e $d_{HAP} = 3,15 \text{ g/cm}^3$ e X_v é a fração volumétrica correspondente.

Tabela 11: Valores da densidade para o hidrogel Hgelsq0 e para os biocompósitos Hgel^{sq}-HAP30, Hgel^{sq}-HAP50 e Hgel^{sq}-HAP60

Amostra	Densidade teórica (d _t) (Regra de Misturas)	Densidade geométrica (d=m/V) g/cm ³	Densidade aparente (Eq.4-1)
		Porosidade % (Eq.12)	Porosidade aparente % (Eq.4-2)
Hgel ^{sq} 0 m=0,47g d= 1,7 cm r=0,85 cm h=0,64 cm V=πr ² h= 1,45 cm ³	1,1 g/cm ³	d=0,32 g/cm ³	d=0,09 g/cm ³
		%p = 68	%p = 91,33
Hgel ^{sq} -HAP30 m=0,49g d= 1,2 cm r=0,6 cm h=0,55 cm V ₁ =πr ² h= 0,622 cm ³	1,72 g/cm ³	d= 0,79 g/cm ³	d=0,14 g/cm ³
		%p = 50,62	%p = 89,54
Hgel-HAP50 m=0,45g d= 0,97 cm r=0,49 cm h=0,75 cm V=πr ² h= 0,57 cm ³	2,12 g/cm ³	d= 1,2 g/cm ³	d=0,16 g/cm ³
		%p = 42,03	%p = 90,16
Hgel-HAP60 m=0,93g d= 1,12 cm r= 0,56 cm h=0,94 cm V=πr ² h= 0,295 cm ³	2,33 g/cm ³	d= 3,15 g/cm ³	d=0,19 g/cm ³
		%p = 37,55	%p = 89,38

Uma das características mais importantes associadas a um compósito a ser utilizado para substituição de tecidos ósseos é a porosidade. A porosidade é necessária para facilitar a distribuição e difusão das células e nutrientes por toda a estrutura, facilitando o crescimento celular e tecidual e a densidade pode afetar as propriedades físicas do material, bem como o comportamento biológico do mesmo (FILHO, JUNIOR, *et al.*, 2006). Alta porosidade gera materiais com menor densidade e assim, quanto menor a densidade, maior a porosidade do material. A porosidade aumenta a área superficial disponível entre o local do implante e o implante em si, aumentando e facilitando a osteointegração.

Observamos na Tabela 11 que o valor da densidade geométrica do hidrogel Hgel^{sq}0 e dos biocompósitos Hgel^{sq}-HAP30 e Hgel^{sq}-HAP50 é muito menor que a densidade teórica determinada pela regra das misturas. Isto pode ser explicado porque a densidade geométrica das amostras foi determinada nas amostras secas, após o colapso da estrutura tridimensional intumescida. Nestas condições, a amostra fica altamente porosa, ou seja, com um volume maior e conseqüentemente a densidade experimental torna-se menor. No biocompósito Hgel^{sq}-HAP60, onde a porosidade é menor, obtemos um valor de densidade maior.

A porosidade pode ser empiricamente determinada a partir da Equação 12 (ROSA, SHAREEF e NOORT, 2000).

$$P (\%) = \left(\frac{d_t - d_e}{d_t} \right) * 100 \quad (\text{Eq. 12})$$

Onde o valor da densidade teórica (d_t) usado foi o determinado a partir da regra das misturas. O valor da densidade experimental (d_e) utilizado foi o valor da densidade geométrica. A porosidade aparente foi determinada pela Eq.4-2. Observamos que a porosidade diminui significativamente na medida em que se aumenta a quantidade de HAP presente nos biocompósitos.

5.2.4 ANÁLISE DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DOS HIDROGÉIS BIOCAMPÓSITOS (Hgel^{sq})

O DRX da HAP comercial utilizada na preparação do biocompósito pode ser visualizada na Figura 5-17. Esta hidroxiapatita cristaliza no sistema hexagonal (BAVARESCO, 2000).

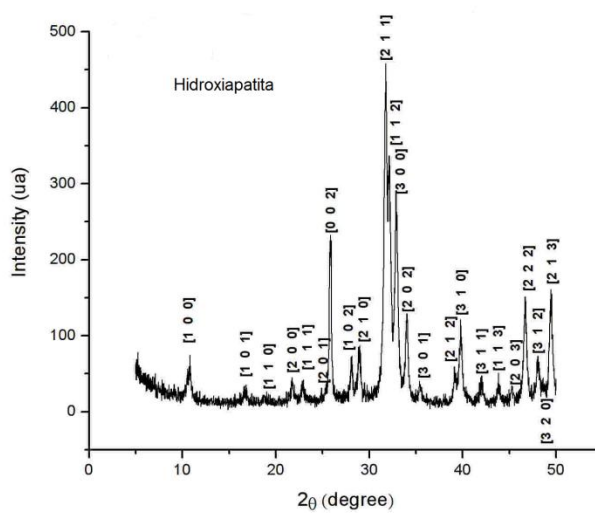


Figura 5-17: DRX da Hidroxiapatita comercial

O difratograma de raios X do hidrogel puro e de duas composições do biocompósito, Hgel^{sq}-HAP30 e Hgel^{sq}-HAP50 são apresentados na Figura 5-18. O hidrogel é um material amorfo. Na curva de DRX do Hgel^{sq} são observadas duas bandas de considerável largura, em torno 5° e 20°. Estas bandas, assim como a banda de baixa intensidade em torno de 40°, aparecem em outros trabalhos de DRX do PNIPAm (VASILEZ, BUMBU, *et al.*, 2004). A presença da HAP nos biocompósitos permite a estes materiais mostrar um caráter parcialmente cristalino. Observamos nas curvas DRX das amostras Hgel^{sq}-HAP30 e Hgel^{sq}-HAP50 os picos de maior intensidade relativos à HAP de estrutura cristalina hexagonal.

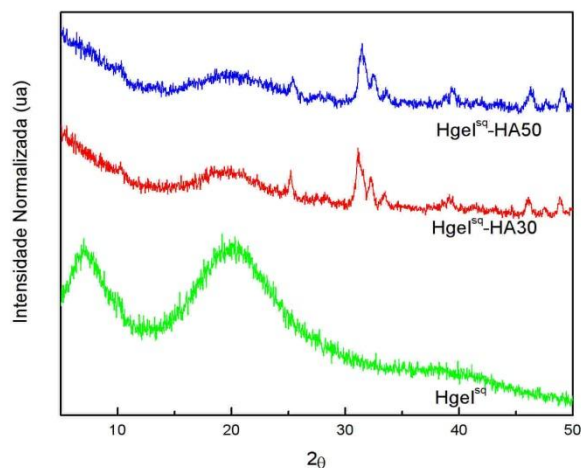


Figura 5-18: DRX dos hidrogéis biocompósitos Hgel^{sq}0; Hgel^{sq}-HAP30 e Hgel^{sq}-HAP50.

5.2.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As figuras seguintes mostram as micrografias da superfície de fratura do hidrogel puro, Hgel^{sq}0, e dos biocompósitos com HAP. Estas micrografias foram obtidas no Microscópio Eletrônico de Varredura MEV Philips-XL 30, como descrito na parte experimental.

Observa-se na Figura 5-19 que o Hgel^{sq}0 apresenta uma rugosidade, característica de estruturas poliméricas reticuladas. Sua superfície é altamente porosa e a morfologia se mostra globular e homogênea em toda a extensão analisada.

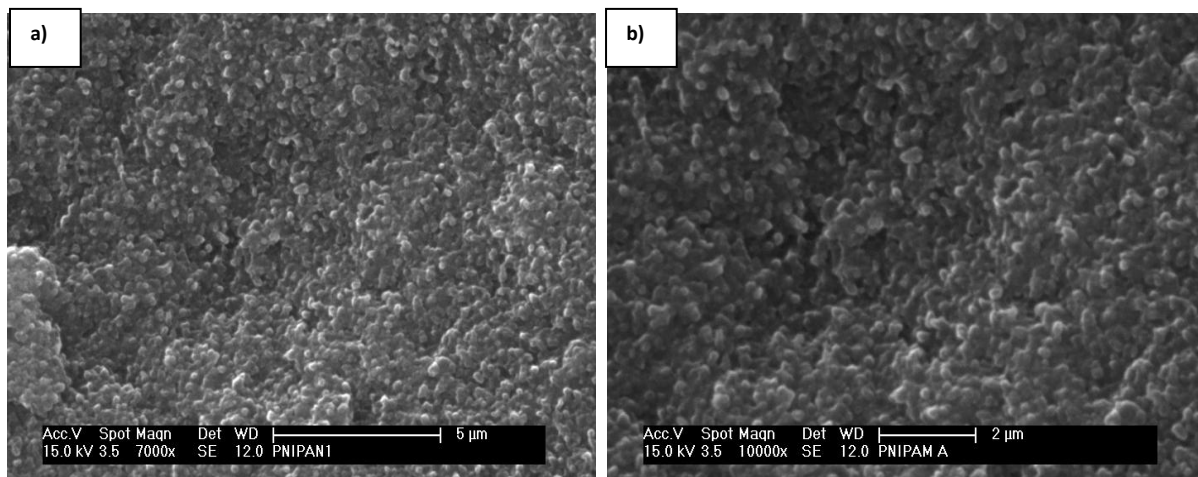


Figura 5-19: Micrografias da superfície de fratura do Hgel^{sq}0

Nos biocompósitos, Figura 5-20, Figura 5-21 e Figura 5-22, as superfícies mostram uma distribuição homogênea das partículas de HAP, onde extensos aglomerados mostram interconectividade com a matriz e assim boa interação física com o hidrogel. Estes agregados aumentam consideravelmente na medida em que aumenta a concentração de HAP. Nas micrografias se observam tanto a porosidade quanto a presença de fissuras, característica das biocerâmicas.

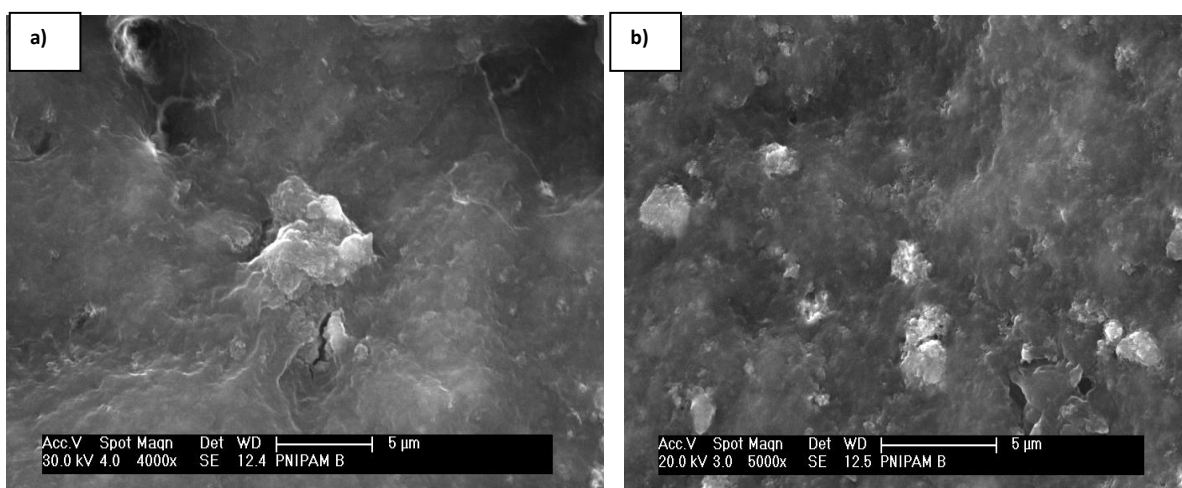


Figura 5-20: Micrografias da superfície de fratura do Hgel^{sq}-HAP30

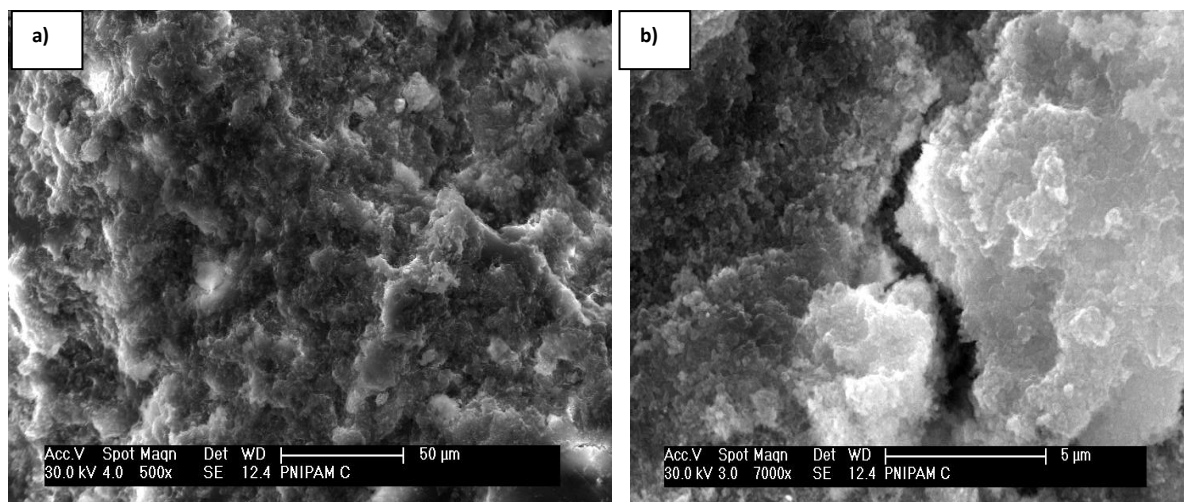


Figura 5-21: Micrografias da superfície de fratura do Hgel^{sq}-HAP50

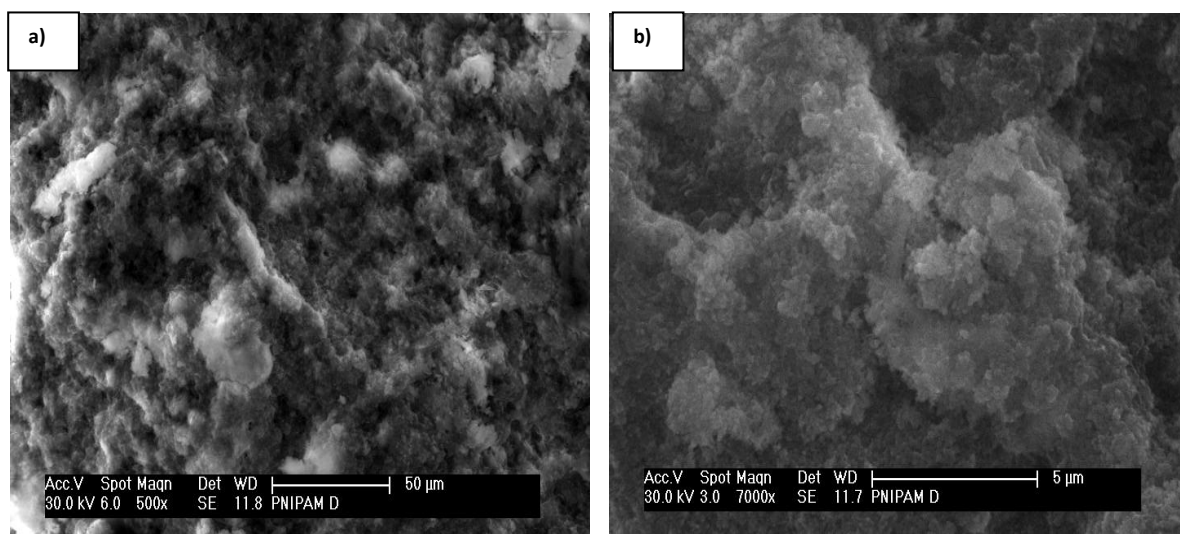
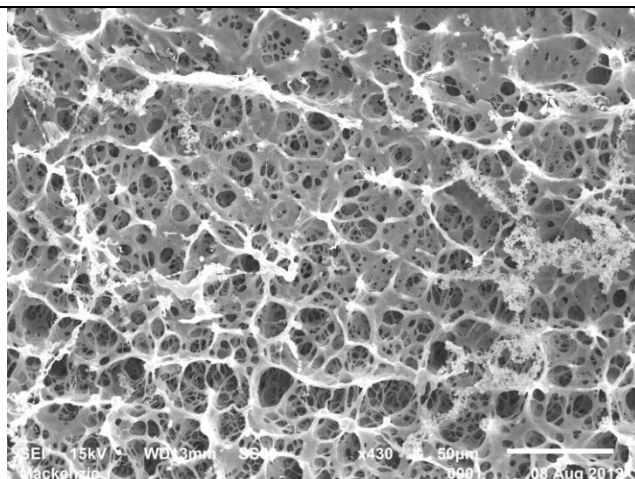


Figura 5-22: Micrografias da superfície de fratura do Hgel^{sq}-HAP60

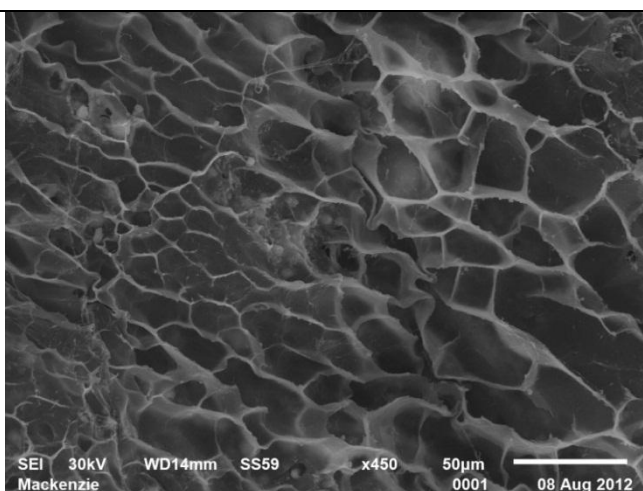
As micrografias da superfície dos hidrogéis Hgel^{sq}0, Hgel^{sq}-HAP30 e Hgel^{sq}-HAP60, Figura 5-23 a, b e c, foram estudadas nestas amostras intumescidas no equilíbrio. A morfologia dos hidrogéis intumescidos exibe uma estrutura tridimensional semelhante a um coral, onde se observam pequenos poros nas cavidades da matriz polimérica (ZHAO, LI, *et al.*, 2008). No biocompósito Hgel^{sq}-

HAP30 a estrutura tridimensional é mantida, porém não são observados poros na cavidade, o que confirma a menor porosidade (Tabela 11). Com o aumento da concentração de HAP, a estrutura tridimensional da matriz torna-se diferente. A HAP incorporada na matriz desfaz a estrutura semelhante a um coral, porém a rede tridimensional é mantida com uma morfologia menos homogênea.

a)

Hgel^{sq}0

b)

Hgel^{sq}-HAP30

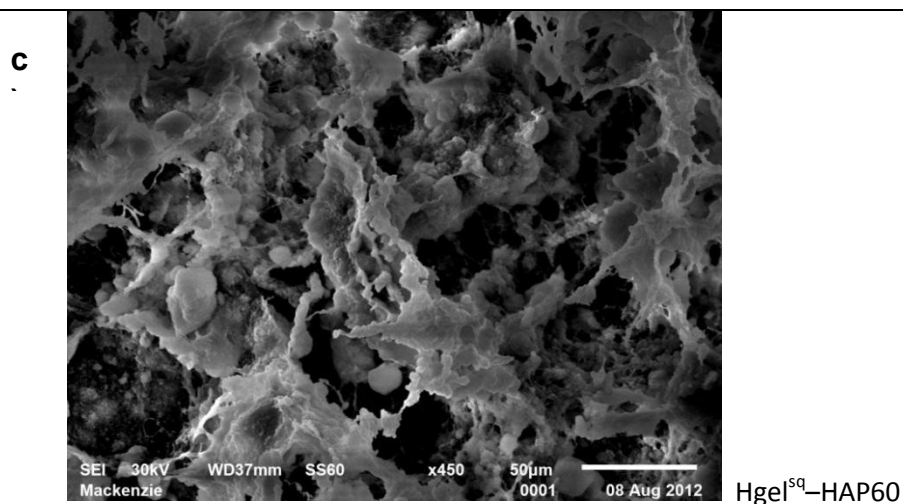


Figura 5-23: Micrografias MEV das amostras intumescidas no equilíbrio

5.2.6 ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO

Um hidrogel miscível tem a propriedade de absorver uma grande quantidade de água ou qualquer fluido com o qual entre em contato. O PNIPAm, especificamente, chega a absorver cerca de 30 vezes o seu peso em água (SOUSA e FREITAS, 1995). Durante o intumescimento (inchamento), as cadeias que formam a rede assumem uma configuração alongada e esta dilatação é acompanhada da aparição de uma força retrátil, em oposição ao processo de inchamento, que atua como uma pressão que as cadeias da rede exercem sobre o solvente contido nelas. À medida que a rede incha com o solvente, ocorre o aumento desta pressão elástica e o inchamento alcança um valor máximo quando ocorre um balanço entre as forças. Neste momento diz-se que foi atingido o equilíbrio de inchamento (SÁEZ, HERNÁEZ e ANGULO, 2003).

Para o estudo do intumescimento do hidrogel utilizamos o modelo de Korsmeyer-Peppas (ABRAHAM, DE QUEIROZ e ROMÁN, 2001):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^n \quad (\text{Eq.13})$$

onde M_t e M_∞ representam as quantidades de água e/ou da solução do fármaco absorvidas pelo hidrogel no tempo e no equilíbrio, respectivamente, k

uma constante e n o coeficiente difusional, que pode possuir valores que estão resumidos na Tabela 12.

Tabela 12: Valores do coeficiente difusional n (RITGER e PEPPAS, 1987)

Valores do Coeficiente Difusional n			Mecanismo de Liberação
Filmes ou blocos finos	Cilindros	Esferas	
0,5	0,45	0,43	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transporte anômalo
1,0	0,89		Difusão do tipo II (Relaxamento macromolecular)

Fazendo a linearização da Equação 13, obtemos:

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = \ln k + n \ln t \quad (\text{Eq.14})$$

Assim, a representação de $\ln(M_t/M_\infty)$ em função de $\ln t$ nos dá uma reta, de onde podemos encontrar os valores de k e n .

Podemos ainda calcular os coeficientes de difusão da matriz polimérica a partir da quantidade de solução absorvida pela rede polimérica, utilizando-se a Equação 15 (ESCOBAR, GARCÍA, *et al.*, 2003):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \sqrt{\frac{Dt}{\pi l^2}} \quad (\text{Eq.15})$$

onde D é o coeficiente de difusão, t o tempo e l a espessura da amostra. Assim, o gráfico M_t/M_∞ em função de $t^{1/2}$ nos fornece o valor de D .

5.2.6.1 ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO EM MEIO AQUOSO

O grau de intumescimento para os hidrogéis, calculado a partir da Equação 6, foi determinado em duas temperaturas distintas, 25 e 40°C e os resultados obtidos apresentados na Figura 5-25 e na Figura 5-26, respectivamente. A Figura 5-24 mostra o biocompósito Hgel^{sq}-HAP60 seco (esquerda) e depois de atingir o

equilíbrio de intumescimento (direita). Nota-se claramente o aumento considerável nas dimensões do biocompósito devido a alta absorção de água.



Figura 5-24: Hgel^{sq}-HAP60 seca (esquerda) e após o intumescimento (direita)

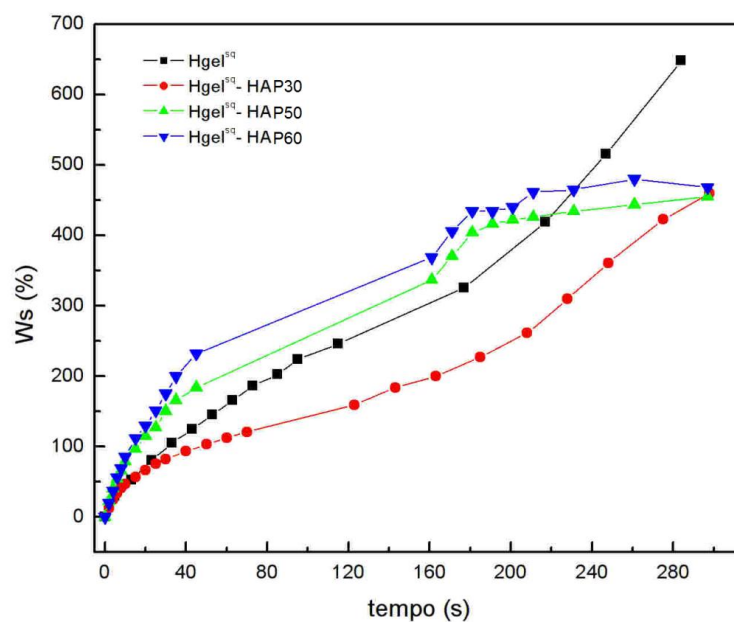


Figura 5-25: Intumescimento no tempo do Hgel^{sq} e dos biocompósitos Hgel^{sq}-HAP30, Hgel^{sq}-HAP50 e Hgel^{sq}-HAP60, em água destilada a 25⁰C

Em relação aos biocompósitos, podemos observar na Figura 5-25 que quanto maior a concentração de HAP maior o valor da fração de intumescimento.

Este comportamento demonstra que a diminuição da porosidade não afeta a capacidade de absorver água do hidrogel. Acreditamos que vários fatores influenciam neste comportamento, primeiro o caráter altamente hidrofílico da HAP, segundo a rede entrecruzada no biocompósito fica menos porosa porém com uma estrutura tridimensional mais aberta, formando macroporos de dimensões micrométricas, como observado na micrografia da Figura 5.23 (c). Os biocompósitos Hgel^{sq}-HAP30, Hgel^{sq}-HAP 50 e Hgel^{sq}-HAP60 atingem valores de fração de intumescimento em torno de 450%. O hidrogel puro Hgel^{sq}0 atinge valores superiores a 600%, comportamento esperado devido à rede entrecruzada tipo coral altamente porosa (ver Figura 5.23 (a)).

O estudo de intumescimento a 40°C é representado na Figura 5-26. A 40°C o hidrogel está acima de sua temperatura de transição térmica como observado na Figura 5.13. Nesta temperatura as cadeias colapsam e ocorre maior dificuldade de penetração de água no hidrogel, obtendo-se valores menores de intumescimento.

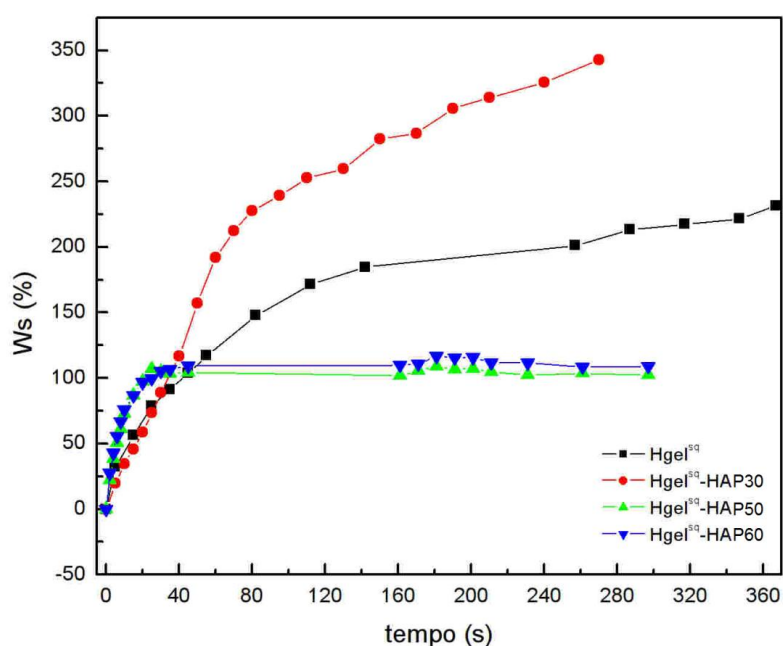


Figura 5-26: Intumescimento no tempo do Hgel^{sq}0 e dos biocompósitos Hgel^{sq}-HAP30, Hgel^{sq}-HAP 50 e Hgel^{sq}-HAP60, em água destilada a 40°C

O hidrogel puro intumescce mais, no equilíbrio, devido a sua maior porosidade. Porém, podemos observar na Figura 5-26 que o biocompósito Hgel^{sq}-HAP30 tem maior capacidade de intumescimento à temperatura de 40°C.

Tabela 13: Valores das constantes n, K e D para os hidrogéis Hgel^{sq} a 25 e 40°C.

Amostras	25 ^o C			40 ^o C		
	n	k	D* (cm ² /s)	n	k	D* (cm ² /s)
Hgel	0,20	2,1	9,85 *10 ⁻⁷	0,18	1,2	5,66*10 ⁻⁶
Hgel-HAP30	0,16	1,7	5,81*10 ⁻⁶	0,18	1,6	6,69 *10 ⁻⁷
Hgel-HAP50	0,22	1,7	4,79*10 ⁻⁶	0,21	0,7	2,73*10 ⁻⁴
Hgel-HAP60	0,10	1,2	2,35 *10 ⁻⁵	0,14	1,6	2,7 *10 ⁻⁴

A Tabela 13 mostra os parâmetros do processo de difusão, calculados segundo as Equações 14 e 15. Podemos observar que tanto nos hidrogéis como nos biocompósitos o expoente de difusão n é menor que 0,5. Isto demonstra que no processo de intumescimento das amostras a relaxação das cadeias na rede polimérica entrecruzada é menos significativa que o processo difusional. O valor da constante k é maior no hidrogel puro, como esperado segundo o comportamento observado nos gráficos de intumescimento e a sua elevada porosidade.

5.2.6.2 ESTUDOS DE INTUMESCIMENTO DA AMOSTRA HGEL^{sq}0 EM SOLUÇÃO DO FÁRMACO AAS

Os resultados dos estudos de intumescimento da amostra Hgel^{sq}0 em soluções de AAS de diferentes concentrações são mostrados na Figura 5-27. Nos tempos iniciais de intumescimento, menores que 30 minutos, Figura 5-27a, os hidrogéis imersos em soluções com maiores concentrações de AAS apresentam menores valores de intumescimento.

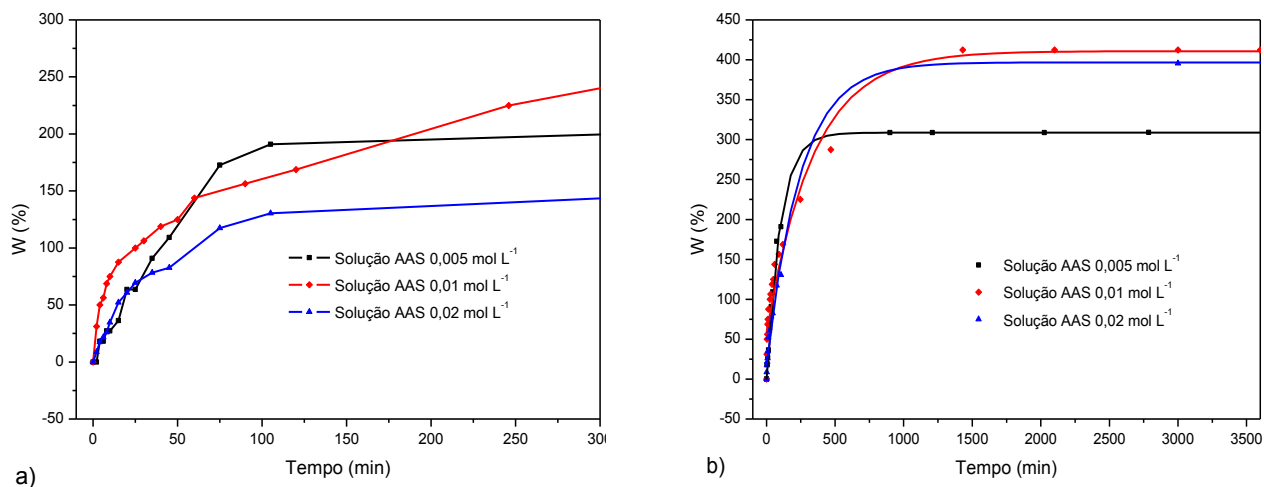


Figura 5-27: Intumescimento para o Hgel^{sq}0 em soluções de diferentes concentrações de AAS a) nos tempos iniciais e b) tempo total.

A Figura 5-27b mostra as curvas de intumescimento dos hidrogéis até atingirem o equilíbrio. As curvas indicam um comportamento característico de hidrogéis: no início, o processo de intumescimento é rápido, passando a ser mais lento quando o tempo de imersão está próximo de atingir o equilíbrio. Podemos verificar que o hidrogel imerso na solução de AAS 0,005 mol L⁻¹ atinge equilíbrio de intumescimento em cerca de 400 minutos, chegando a um grau de intumescimento de 306%. Verifica-se que maiores concentrações de AAS parecem influenciar no valor de W(%). Os hidrogéis imersos em soluções com maiores concentrações de AAS obtiveram maiores valores de intumescimento. O hidrogel, imersos em soluções de AAS nas concentrações de 0,01 e 0,02 mol L⁻¹ atingiram equilíbrio em um grau de intumescimento de 412 e 395%, respectivamente.

As curvas $\ln(M_t/M_\infty)$ por $\ln t$ são apresentados na Figura 5.28, Figura 5.29 e na Figura 5-30 e as constantes k e n obtidas resumidas na Tabela 14.

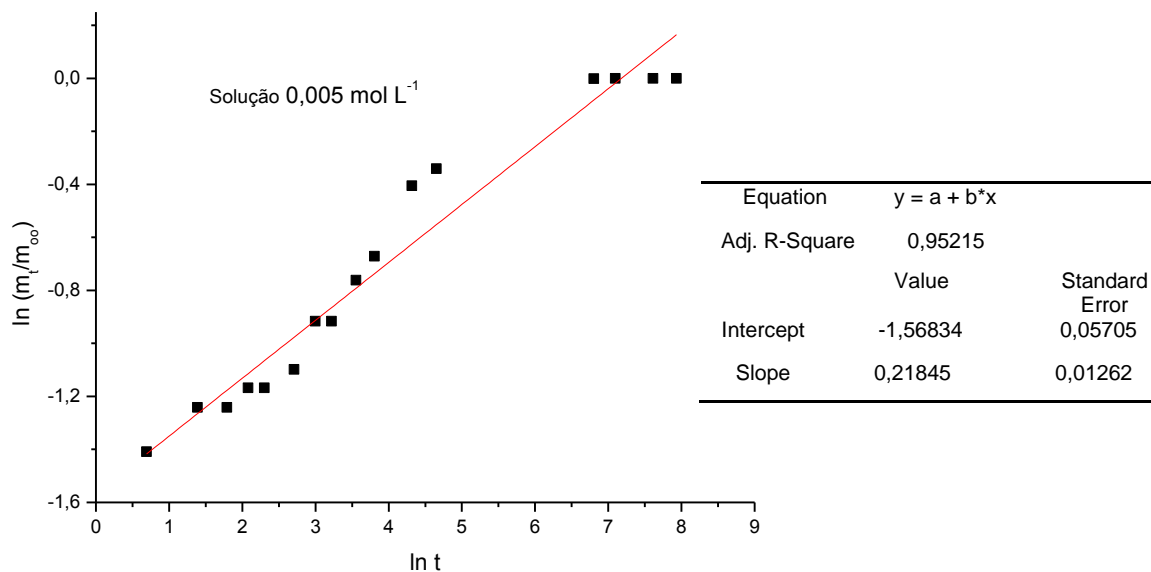


Figura 5-28: $\ln(M_t/M_{oo})$ em função de $\ln t$ da Solução AAS 0,005 mol L⁻¹

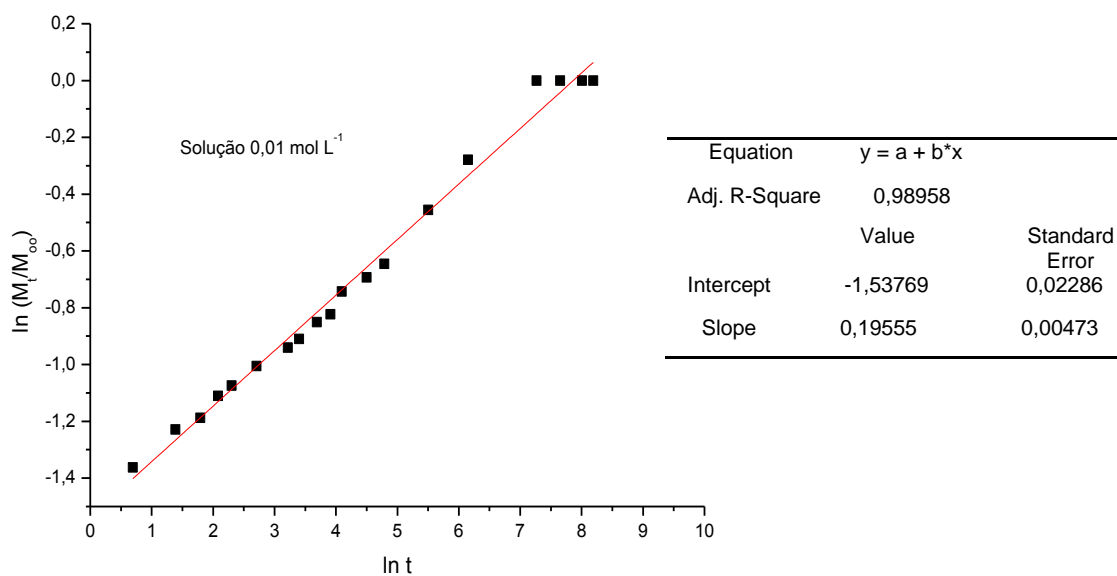


Figura 5-29: $\ln(M_t/M_{oo})$ em função de $\ln t$ da Solução AAS 0,01 mol L⁻¹

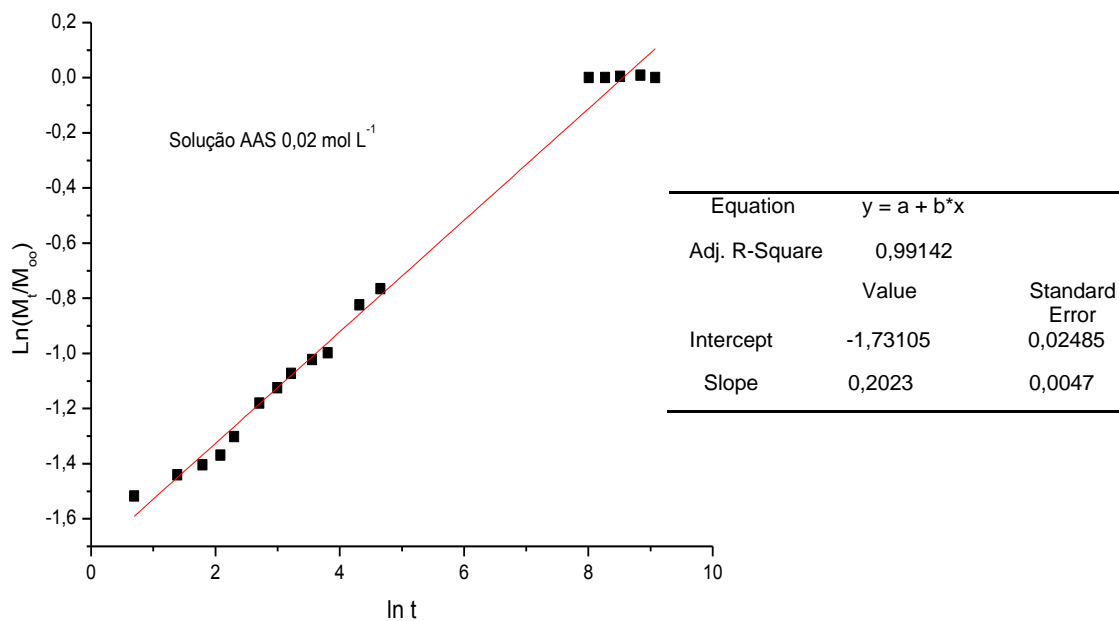


Figura 5-30: $\ln(M_t/M_{oo})$ em função de $\ln t$ da Solução AAS 0,02 mol L⁻¹

A Figura 5-31, Figura 5-32 e a Figura 5-33 representam curvas de M_t/M_{oo} em função de $t^{1/2}$, das quais obtemos o valor da constante D, apresentada na Tabela 14.

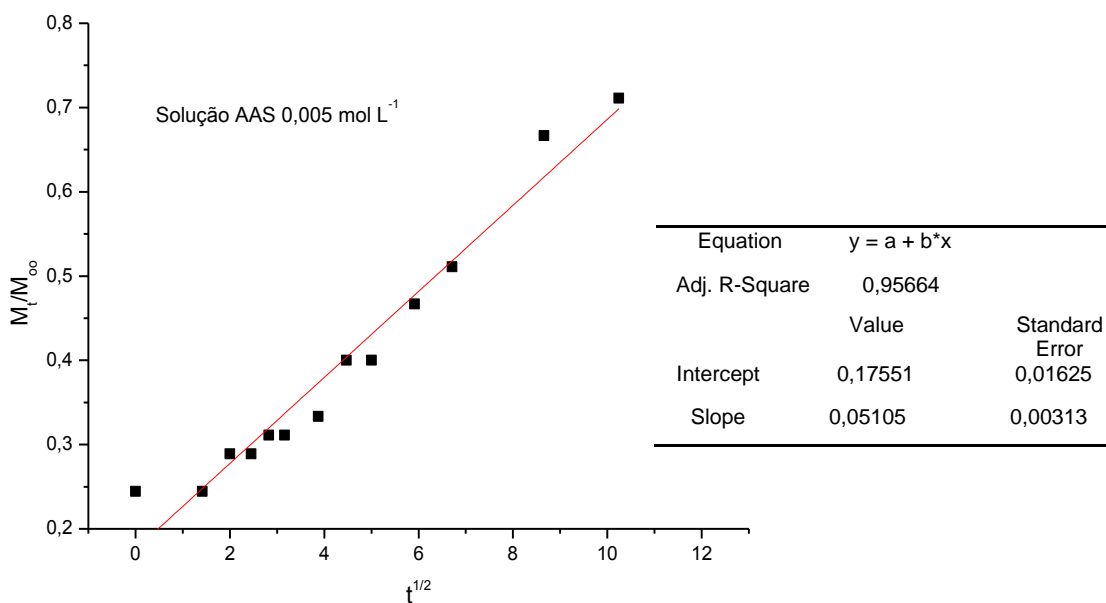


Figura 5-31: M_t/M_{∞} em função de $t^{1/2}$ da Solução AAS 0,005 mol L⁻¹.

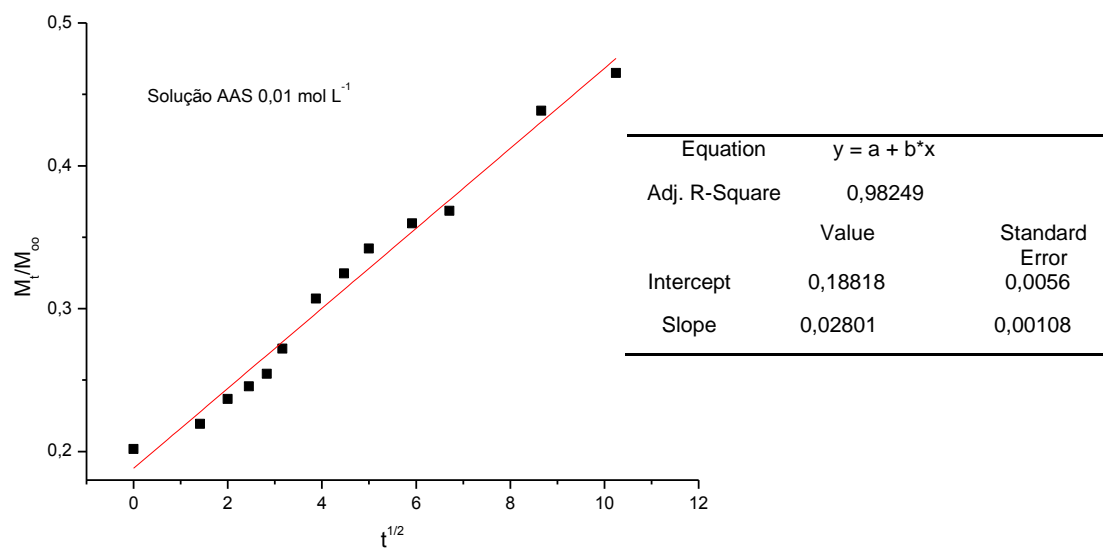


Figura 5-32: M_t/M_{∞} em função de $t^{1/2}$ da Solução AAS 0,01 mol L⁻¹

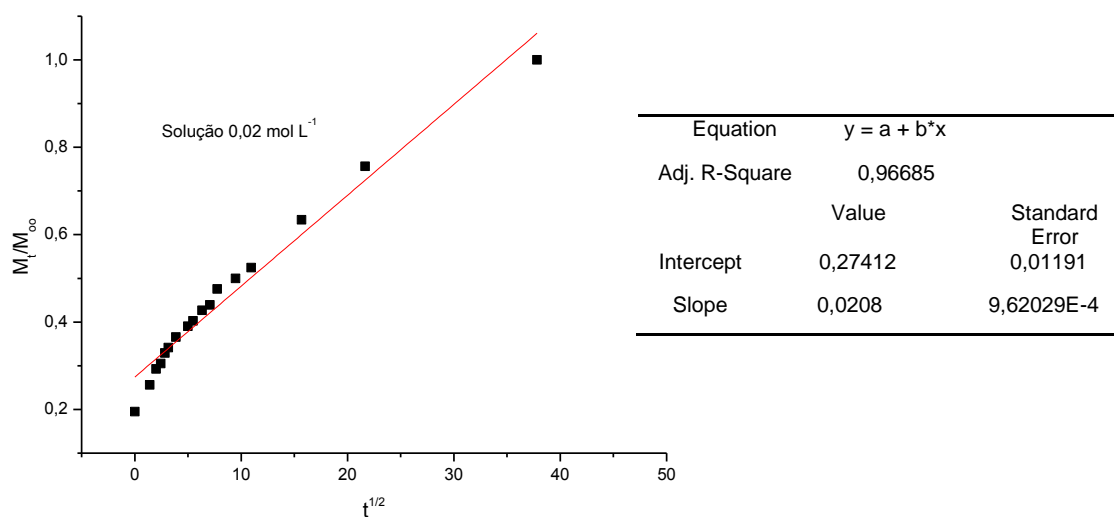


Figura 5-33: M_t/M_{∞} em função de $t^{1/2}$ da Solução AAS 0,02 mol L⁻¹

Tabela 14: Valores das constantes n, k e D para os hidrogéis imersos nas soluções de AAS 0,005, 0,01 e 0,02 mol L⁻¹.

	n	K	D (cm ² /s)
Solução 0,005 mol L ⁻¹	0,22	0,21	1,36*10 ⁻⁶
Solução 0,01 mol L ⁻¹	0,20	0,21	0,41*10 ⁻⁶
Solução 0,02 mol L ⁻¹	0,20	0,18	0,26*10 ⁻⁶

5.2.7 ESTUDOS DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO (AAS)

A cinética de liberação do fármaco envolve processos simultâneos de absorção de água pelo hidrogel, intumescimento e relaxamento das cadeias poliméricas e a liberação do fármaco incorporado. Assim, a liberação do fármaco é controlada pela interação entre a água, o polímero e o fármaco. Conseqüentemente, o tratamento matemático, abrangendo todos esses mecanismos torna-se muito complexo (LOPES, LOBO e COSTA, 2005). Para o processo de liberação também utilizamos a equação semi-empírica da Lei de Fick e a determinação dos parâmetros de liberação é feita através das equações 14 e 15, já utilizadas anteriormente para o processo de intumescimento.

Inicialmente, elaborou-se a curva de calibração do AAS diluído em água em diferentes concentrações, de 1200µM a 8000µM, obtendo-se a curva da Figura 5-34.

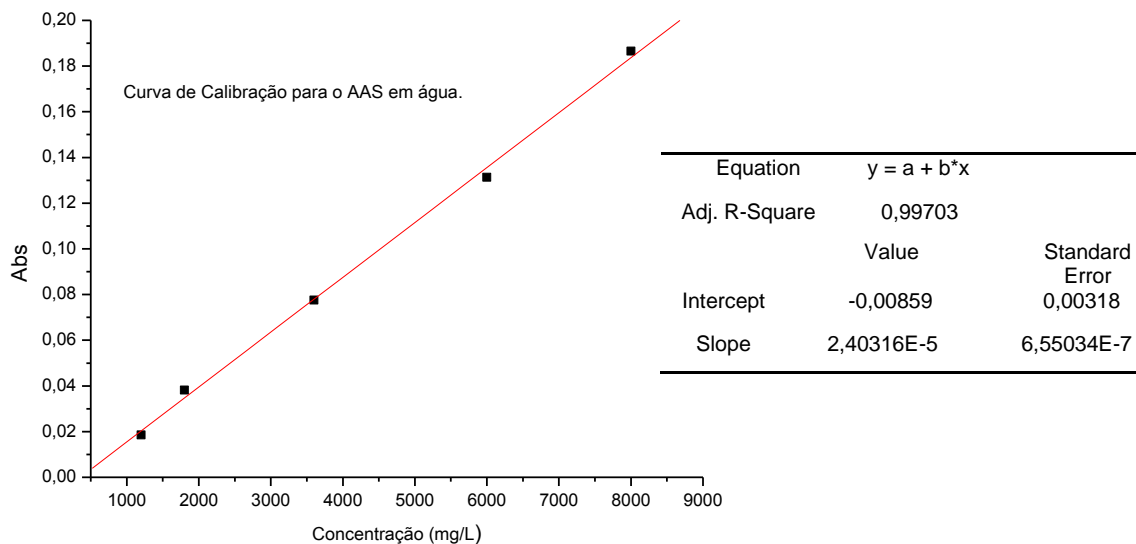


Figura 5-34: Curva de Calibração do AAS em água.

Assim, da Figura 5-34, obtemos a equação de calibração do AAS em água:

$$A = 2,403 * 10^{-5} C - 0,00859 \quad (\text{Eq.16})$$

Onde A é a absorvância e C a concentração de AAS.

Os testes de liberação de AAS foram realizados em água por 238 horas. As amostras, denominadas amostras A, B e C foram intumescidas com soluções de AAS nas concentrações de 0,005, 0,01 e 0,02 mol L⁻¹, respectivamente. Assim, a quantidade de AAS nas amostras cresce de A para C. Para determinação da quantidade de AAS liberado no tempo, as amostras ficaram submersas em água (pH 4,0) à temperatura ambiente (25°C) sob agitação constante. A Figura 5-35 representa a massa liberada de AAS no tempo para as amostras.

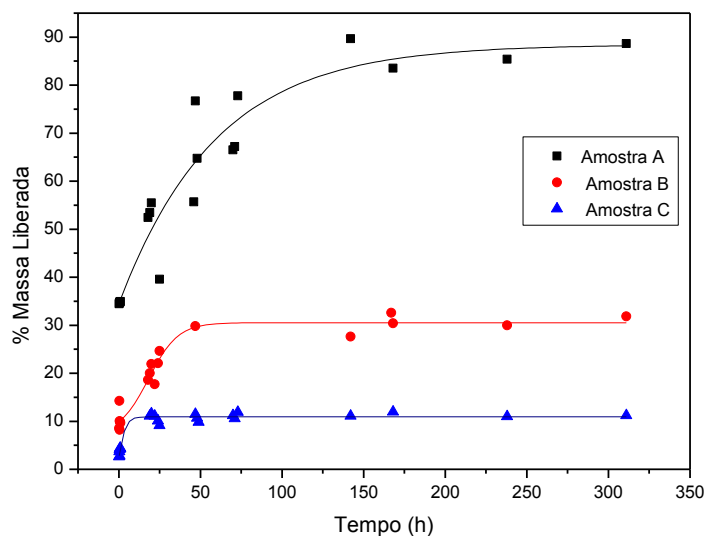


Figura 5-35: Liberação de AAS associada às amostras A, B e C

A amostra A, que possui menor quantidade do fármaco AAS, libera o fármaco de forma contínua até o final do tempo utilizado e é a amostra que libera a maior porcentagem do fármaco, chegando a quase 90%. A amostra B, por sua vez, libera de forma crescente o fármaco até cerca de 29 horas de imersão em água, chegando a liberar cerca de 30% do fármaco. Após esse tempo, a liberação chega a um platô, onde a porcentagem de AAS liberado não mais se altera. A amostra C, que possui maior quantidade de AAS é a que menos libera o fármaco. Até as primeiras 10 horas há um crescimento exponencial da massa de fármaco liberada e após esse tempo a massa de AAS liberada não mais se altera.

Utilizando novamente a equação 14 podemos determinar as constantes K e n. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 5-36, Figura 5-37 e Figura 5-38 e as constantes k e n resumidas na Tabela 15.

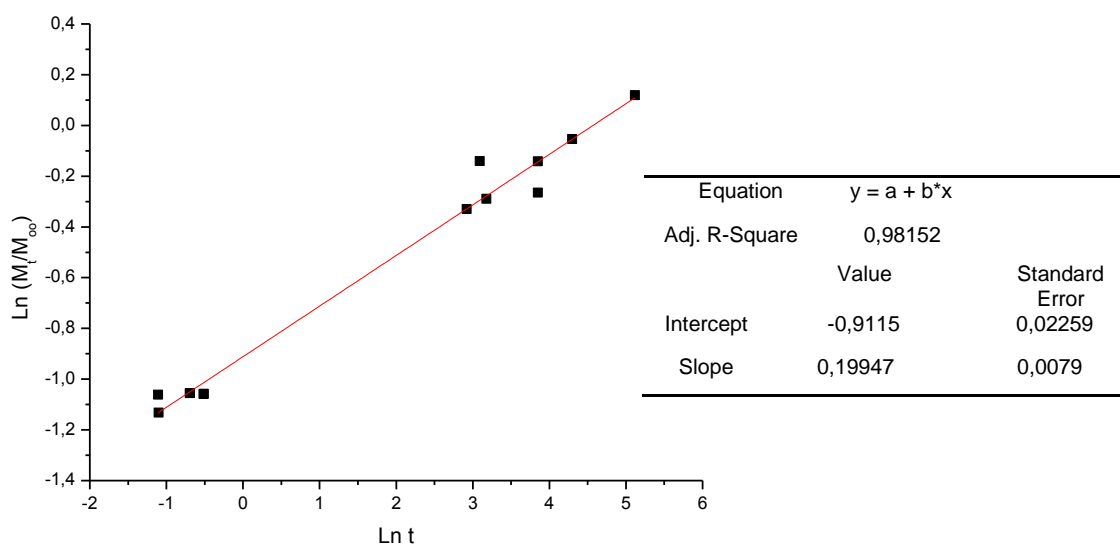


Figura 5-36: $\ln(M_t/M_{oo})$ em função de $\ln t$ da Amostra A

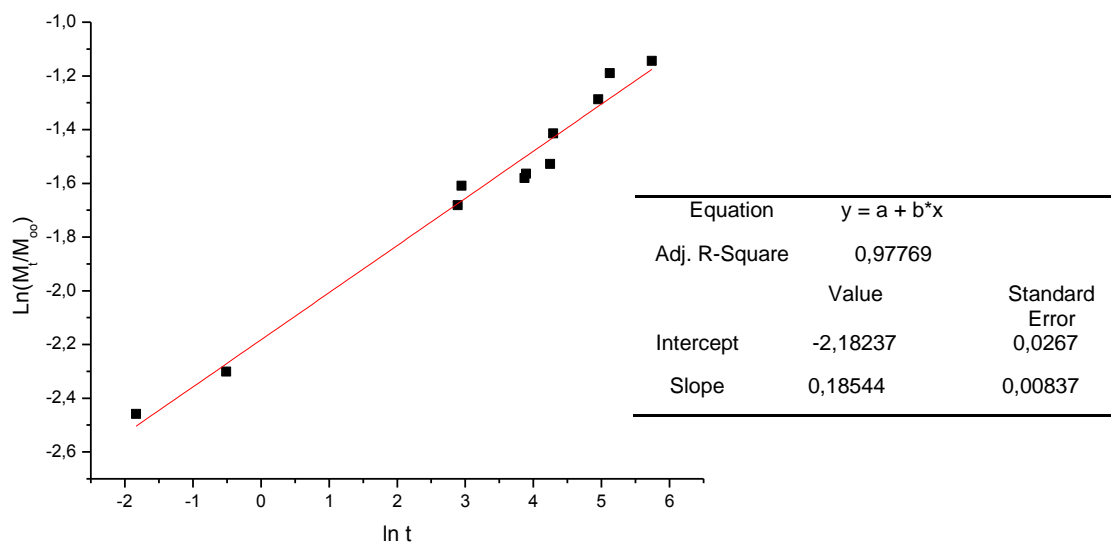


Figura 5-37: $\ln(M_t/M_{oo})$ em função de $\ln t$ da Amostra B

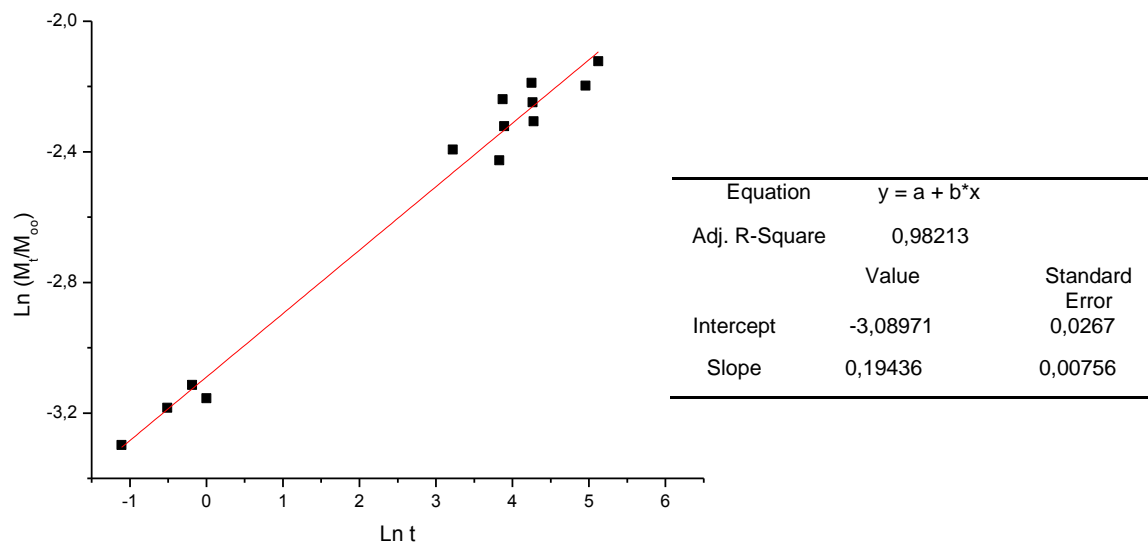


Figura 5-38: $\ln(M_t/M_{oo})$ em função de $\ln t$ da Amostra C

O gráfico M_t/M_{oo} em função de $t^{1/2}$ das amostras são apresentados na Figura 5-39, Figura 5-40 e Figura 5-41 e a constante D obtida apresentada na Tabela 15.

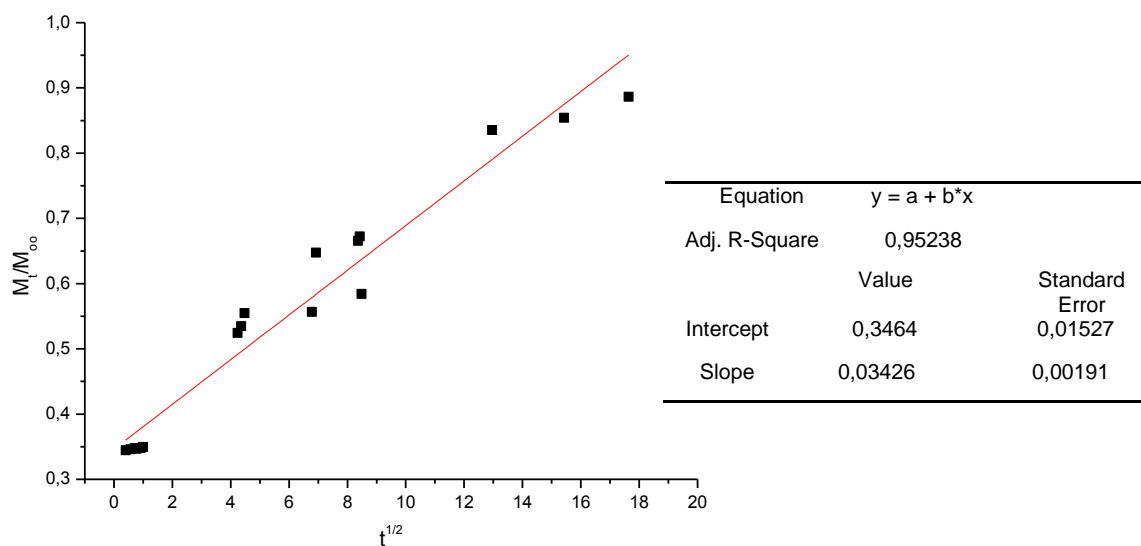


Figura 5-39: M_t/M_{oo} em função de $t^{1/2}$ da Amostra A

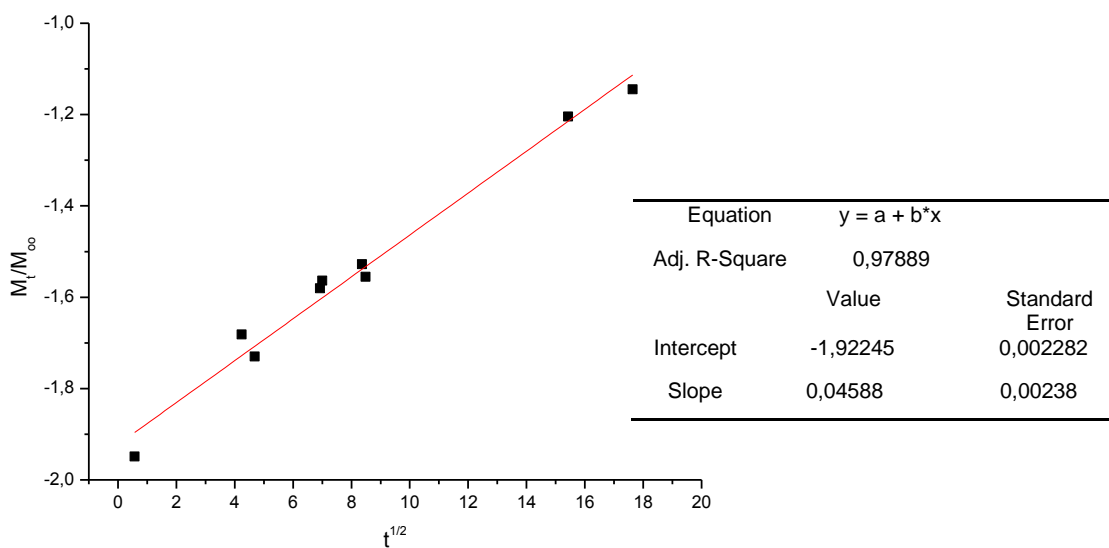


Figura 5-40: M_t/M_{∞} em função de $t^{1/2}$ da Amostra B

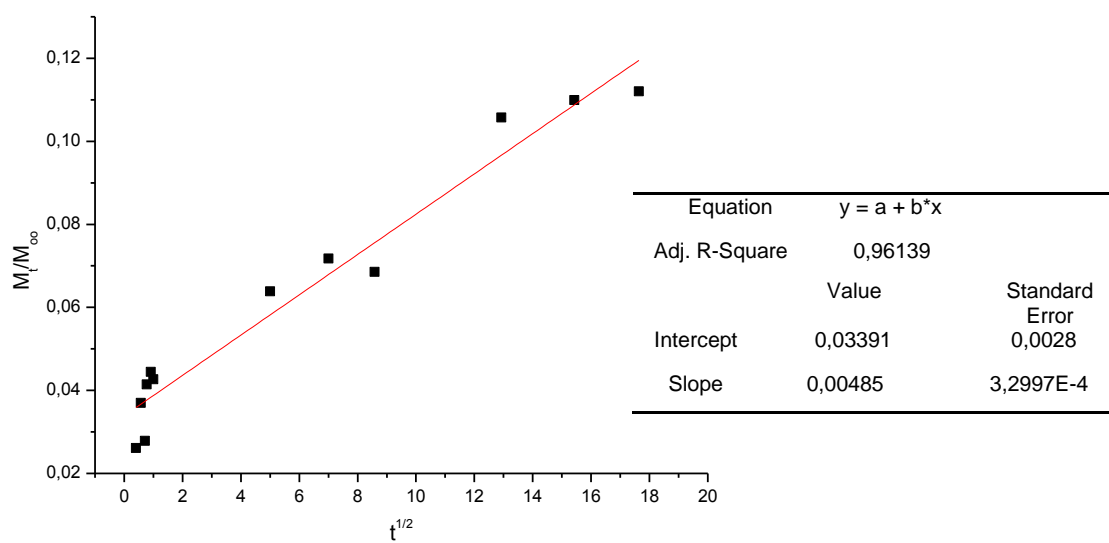


Figura 5-41: M_t/M_{∞} em função de $t^{1/2}$ da Amostra C

Tabela 15: Valores das constantes n, K e D para as amostras A, B e C imersas em solução aquosa.

	n	K	D (*10 ⁶ cm ² /s)
Amostra A	0,20	0,40	6,14*10 ⁻⁷
Amostra B	0,19	0,11	1,1*10 ⁻⁶
Amostra C	0,19	0,05	1,1*10 ⁻⁸

Os resultados obtidos no estudo de liberação demonstram que o processo de liberação é controlado, mantendo-se a concentração do fármaco constante. Observamos também que a concentração do fármaco influencia na liberação, isto porque o processo difusional é controlado pelo solvente água. Portanto, a amostra que libera maior concentração de fármaco é aquela que apresentou maior intumescimento, como observado na Figura 5.27.

6. CONCLUSÕES

As seguintes conclusões foram obtidas a partir dos resultados experimentais:

6.1 CONCLUSÕES SOBRE HIDROGÉIS PNIPAm (Hgel^{se})

As análises feitas permitem concluir que o método eletroiniciado utilizado para síntese do PNIPAm mostrou-se eficiente, gerando hidrogéis com propriedades físico-químicas semelhantes às reportadas na literatura. Constatamos que a presença do agente reticulante, MBAAm, faz aumentar as propriedades de peso molecular e temperatura de transição vítrea, interferindo ainda no valor da temperatura de transição de fases LCST dos hidrogéis.

6.2 CONCLUSÕES SOBRE BIOCOMPÓSITOS PNIPAm/HAP(Hgel^{sq})

Os biocompósitos formados a partir de síntese química mostraram-se promissores como materiais para implantes de preenchimento, dada as propriedades obtidas. A HAP foi incorporada homoganeamente a matriz polimérica de PNIPAm, o que foi confirmado pelas caracterizações por DRX e MEV. As análises de densidade e porosidade mostram que estas propriedades aumentam e diminuem, respectivamente, com o aumento da concentração de HAP incorporada. A temperatura de degradação dos hidrogéis também é modificada quando do aumento da quantidade de HAP na matriz polimérica.

Os estudos de intumescimento em solução aquosa a 25 e 40°C confirma que a temperatura influencia no intumescimento, sendo que a 25°C ocorre maior absorção de água que a 40°C. Os estudos de intumescimento em solução de AAS mostra que o fármaco influencia no grau de intumescimento, sendo que as amostras imersas em soluções com maior concentração do mesmo são as que mais intumescem. Contrariamente, essas mesmas amostras são as que apresentam menores valores de liberação. Em todas as análises de

intumescimento e liberação realizadas, os coeficientes difusionais encontrados foram inferiores a 0,5, chegando a conclusão de que o processo de intumescimento na rede polimérica independe da relaxação das cadeias.

7. PERSPECTIVAS

O presente trabalho serviu como base para o desenvolvimento de hidrogéis de PNIPAm com futuras aplicações biomédicas como sistemas de liberação de fármacos e, em formulações de biocompósitos para o tratamento de lesões de cartilagem articular. As perspectivas futuras quanto a este trabalho referem-se ao aprimoramento e ampliação dos conhecimentos já obtidos.

Com relação aos hidrogéis de PNIPAm, tendo a certeza de que a polimerização via síntese eletroiniciada é eficaz, faremos o estudo completo das relações entre as variáveis do sistema, tendo em vista a maior conversão do polímero. Variações da corrente utilizada, do tempo de passagem da mesma pela solução, quantidades dos reagentes, dentre outras, e como isso afeta a taxa de conversão do polímero serão alguns dos problemas propostos.

Quanto aos biocompósitos, podemos neste trabalho verificar que menores concentrações de HAP geram biocompósitos com maior porosidade. Logo, em trabalhos futuros sintetizaremos biocompósitos PNIPAm/HAP com proporções de 90/10%, respectivamente. Além disso, faremos a introdução de um agente de crescimento, o Sulfato de Condroitina, que estimula o crescimento celular e ajuda no tratamento de lesões de cartilagem articular, formando sistemas que podem ser classificados como biomateriais para implantes de preenchimento não degradáveis. Tais sistemas devem ser caracterizados quanto as propriedades físicas, mecânicas e estruturais. Posteriormente serão realizados estudos de intumescimento em solução simuladora do fluido biológico e finalmente, serão realizados estudos de liberação controlada “in vitro” do Sulfato de Condroitina.

8. BIBLIOGRAFIA

ABRAHAM, G. A.; DE QUEIROZ, A. A. A.; ROMÁN, J. S. Hydrophilic hybrid IPNs of segmented polyurethanes and copolymers of vinylpyrrolidone for applications in medicine. *Biomaterials*, v. 22, p. 1971-1985, 2001.

AFRASSIABI, A.; HOFFMAN, A. S.; CADWELL, L. A. Effect of temperature on the release rate of biomolecules from thermally reversible hydrogels. *Journal of Membrane Science*, v. 33, p. 191-200, 1987.

AKCELRUD, L. *Fundamentos da Ciência dos Polímeros*. 1ª Edição. ed. Barueri-SP: Manole, 2007.

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.

AOUADA, F. A.; MUNIZ, EDVANI C.; VAZ, CARLOS M.P.; MATTOSO, LUIZ H.C.. Correlação entre parâmetros da cinética de intumescimento com características estruturais e hidrofílicas de hidrogéis de poli(acrilamida e metilcelulose). *Química Nova*, v. 32, n. 6, p. 1482-1490, 2009.

BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK, E. A. R. Polímeros bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, n. 1, p. 13-21, 2005.

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

BOLDT, J.; FOLGUEIRAS, M. V.; PEZZIN, A. P. T. Desenvolvimento de filmes de poli(3-Hidroxi-butilato) P(3HB) e biocompósitos de Hidroxiapatita (HA/P(3HB)) para aplicações na área médica. 9º Congresso Brasileiro de Polímeros - CBPOL. [S.I.]: [s.n.]. 2010. p. 10.

BRANT, A. J. C. Preparação e Caracterização de hidrogéis a partir de misturas de soluções de quitosana e poli(N-vinil-2-pirrolidona). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 170. 2008.

- BUDDY, D. R.; HOFFMAN, A. S. Synthetic Hydrogel for Biomaterials Applications. *Hydrogels for Medical and Related Applications*, 1 junho 1976. 1-36.
- CALLISTER JR, W. D. *Ciência e Engenharia de Materiais: uma Introdução*. 7ª Edição. ed. [S.I.]: LTC, 2008.
- CANEVAROLO JR, S. V. *Técnicas de Caracterização de Polímeros*. São Carlos - SP: Artliber Editora Ltda, 2004.
- CARLO, E. C. *Compósitos de Hidroxiapatita e Polihidroxibutirato em defeitos ósseos experimentais na ulna de coelhos*. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, p. 71. 2007.
- CHIANTORE, O.; GUAITA, M.; TROSSARELLI, L. Solution Properties of Poly (N-isopropylacrylamide). *Macromolecules Chemistry*, v. 180, p. 969-973, 1979.
- COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M.G.; LIMA, L.H.M.A.; CORDEIRO, V.V.; VIANA, K.M.S.; SOUZA, C.V.; LIRA, H.L.. *Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações*. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 4.3, p. 29-38, 2009. 1809-8797.
- 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.
- COUGHLAN, D. C.; QUILTY, F. P.; CORRIGAN, O. I. Effect of drug physicochemical properties on swelling/deswelling kinetics and pulsatile drug release from thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels. *Journal of Controlled Release*, v. 98, p. 97-114, 2004.
- DA SILVA, A. R. P. *Estudo das propriedades bioquímicas de sistemas poliméricos arborescentes PGLD-AAS para o tratamento do câncer*. Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, p. 169. 2008.
- DABBAS, F.; LEITE, J.L.; LAGO, A.; PIRES, A.T.N.; AHRENS, C.H.; SALMORIA, G.V. *O uso de sinterização seletiva a laser no processamento de compósitos PA/HAP e PE/HAP visando aplicações na engenharia tecidual*. 8º Congresso Brasileiro de Polímeros - CBPOL. [S.I.]: [s.n.]. 2008. p. 2.
- DECKER, C.; VATAJ, R.; LOUATI, A. Synthesis of acrylic polymer networks by electroinitiated polymerization. *Progress in Organic Coatings*, v. 50, p. 263-268, 2004.

- DEKA, S. R.; QUARTA, A.; CORATO, R. D.; RIEDINGER, A.; CINGOLANI, R.; PELLEGRINO, T. 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.
- DIEZ-PENA, E.; QUIJADA-GARRIDO, I.; BARRALES-RIENDA, J. M. Hydrogels based on N-isopropylacrylamide and methacrylic acid: thermal stability and glass transition behaviour. *Polymer Bulletin*, v. 48, p. 83-91, Fevereiro 2002.
- DIMITROV, I.; TRZEBICKA, B.; MULLER, A.H.E.; DWORAK, A.; TSVETANOV, C. B. Thermosensitive water-soluble copolymers with doubly responsive reversibly interacting entities. *Progress in Polymer Science*, v. 32, p. 1275-1343, 2007.
- DUARTE, T. S.; BORGES, A.P.B.; LAVOR, M.S.L.; FILGUEIRAS, R.; TSIOMIS, A.C.; OLIVEIRA, F.L.; PONTES, K.C.S.. Osteointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães: aspectos histológicos. *Arq. Bras. Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 5, p. 849-853, 2006.
- 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.
- ESCOBAR, J. L.; GARCÍA, D.M.; VALERINO, A.; ZALDIVAR, D.; HERNÁNDEZ, E.; KATIME, I. Influencia de la temperatura y la composición de los copolímeros sobre el proceso de hinchamiento en hidrogeles de poli-(n-isopropilacrilamida-co-n,n,dimetilacrilamida). *Revista Iberoamericana de Polímeros*, v. 4(4), Dezembro 2003.
- FANG, Z.; ZHEN, T.; SATO, T. Molecular chain properties of poly (N-isopropyl acrylamide). *Science in China*, v. 42, n. 3, p. 290-297, dezembro 1999.
- FEIJÓ, F. D.; MAGALHAES, WELLINGTON F.; FREITAS, ROBERTO F.S.; SOUSA, RICARDO G. Estudo da Influência das Concentrações de Monômero Principal e de Agente Reticulante na Estrutura do Gel Poli(N-isopropilacrilamida)

através de Espectroscopia de Aniquilação de Póstrons. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, p. 33-38, outubro/dezembro 1999.

FIALHO, S. L.; CUNHA JUNIOR, A. D. S. Sistemas de transporte de drogas para o segmento posterior do olho: bases fundamentais e aplicações. *Arq Brasileira de Oftalmologia*, v. 70, n. 1, p. 173-179, 2007.

FILHO, H. N.; Junior, L.C.; Nagem, H.D.; Francisconi, P.A.S. Engenharia tecidual dos biomateriais. *Innovations Implant Journal - Biomaterials and Esthetics*, v. 1, n. 1, p. 54-62, 2006.

FILHO, J. F. D. S. Estudo dos parâmetros de síntese do gel termossensível poli (n-isopropilacrilamida). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 82. 2005.

FRAILE, M. U.; SERRANO, E. C. *Polímeros Inteligentes*. Univesidade Carlos III. Madri - Espanha, p. 86. 2009.

FRANÇA, V. P.; FIGUEIREDO, A.R.P.; VASCONCELOS, A.C.; ORÉFICE, R.L.. Estudo comparativo experimental de compósito bioativo de matriz polimérica para aplicação em cirurgia plástica ocular na substituição tecidual. *Arq Brasileira de Oftalmologia*, v. 68, n. 4, p. 425-431, 2005.

GALAEV, I.; MATTIASSON, B. *Smart polymers: applications in biotechnology and biomedicine*. 2^a. ed. New York: CRC Press, 2008.

GANACHAUD, F; MONTEIRO, M.J.; GILBERT, R.G.; DOURGES, M.A.; THANG, S.H.; RIZZARDO, E. Molecular Weight Characterization of Poly(N-isopropylacrylamide) Prepared by Living Free-Radical Polymerization. *Macromolecules*, v. 33, p. 6738-6745, 2000.

GAO, J.; FRISKEN, B. J. Cross-Linker-Free N-Isopropylacrylamide Gel Nanospheres. *Langmuir*, v. 19, p. 5212-5216, 2003.

GUAN, Y.; ZHANG, Y. PNIPAM microgels for biomedical applications: from dispersed particles to 3D assemblies. *The Royal Society of Chemistry*; <http://pubs.rsc.org> | doi:10.1039/C0SM01541E, 2011.

HAN, S. J.; YOO, M.K.; SUNG, Y.K.; LEE, Y.M.; CHO, C.S. Cloud point of poly(N-isopropylacrylamide) synthesized in the presence of cyclodextrin. *Macromol. Rapid Commun*, v. 19, p. 403-407, 1998.

HOLLAND, T. A.; BODDE, E.W.H.; BAGGETT, L.S.; TABAT, Y.; MIKOS, A.G.L. Osteochondral repair in the rabbit model utilizing bilayered, degradable oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogel scaffolds. *interscience*, p. 12, (www.interscience.wiley.com) 2005.

HOLLANDA, T. A.; TESSMARA, J.K.V.; TABATAB, Y.; MIKOS, A.G. Transforming growth factor-B1 release from oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogels in conditions that model the cartilage wound healing environment. *Journal of Controlled Release*, v. 94, p. 101-114, 2004.

HOLLANDA, T. A.; TABATAB, Y.; MIKOS, A. G. In vitro release of transforming growth factor-b1 from gelatin microparticles encapsulated in biodegradable, injectable oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogels. *Journal of Controlled Release*, v. 91, p. 299-313, 2003.

JAISWAL, M. K.; BANERJEE, R.; PRADHAN, P.; BAHADUR, D. Thermal behavior of magnetically modalized poly(N-isopropylacrylamide)-chitosan based nanohydrogel. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 81, p. 185-194, julho 2010.

KHURSHID, S. S.; SLAUGHTER, B.V.; FISHER, O.Z.; KHADEMHOSEINI, A.; PEPPAS, N.A. Hydrogels in Regenerative Medicine. *Advanced Materials*, v. 21, p. 3307–3329, 2009.

KIKUCHI, K.; IIDA, T.; OKAYA, T. Study on Electrolytic Emulsion-Polymerization of Styrene initiated with a Redox System of Hydrogen Peroxide and Iron(II) ion using a Stainless Electrode. Department of Materials Science, The University of Shiga Prefecture. Shiga-Japão, p. 2. 2010.

KOHORI, F.; SAKAI, K.; AOYAGI, T.; YOKOYAMA, M.; YAMATO, M.; SAKURAI, Y.; OKANO, T. Control of adriamycin cytotoxic activity using thermally responsive polymeric micelles composed of poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-dimethylacrylamide)-b-poly(D,L-lactide). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 16, p. 195-205, 1999.

KREVELER, D. W. V.; NIJENHUIS, K. T. *Properties of Polymers*. 4ª Edição. ed. [S.I.]: Elsevier, 2009.

LAI, G.; 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.

LANGER, R. New Methods of Drug Delivery. *Science*, v. 249, p. 1527-1533, 28 setembro 1990.

LANGER, R.; ANDERSON, D.; TIMKO, B.P.; GAO, W; WHITEHEAD, K. Advances in Drug Delivery. *Annual Review of Materials Research*, v. 41, p. 1-3, 2011.

LEGEROS, R.Z; ITO, A.; ISHIKAWA, K.; SAKAE, T.; LEGEROS, J.P. Fundamentals of Hydroxyapatite and related calcium phosphates. *Advanced Biomaterials: Fundamentals, Processing and Applications*, p. 19-53, 2009.

LIU, F.; TAO, G.; ZHUO, R. Synthesis of Thermal Phase Separating Reactive Polymers and Their Applications in Immobilized Enzymes. *Polymer Journal*, v. 25, n. 6, p. 561-567, julho 1993.

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

LOPES, L. Evolução dos Materiais poliméricos - Centenário dos polímeros sintéticos: da bakelite aos nanocompósitos. Acesso em: 06 agosto 2012.

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.

MAEDA, Y.; HIGUCHI, T.; IKEDA, I. Change in Hydration State during the Coil-Globule Transition of Aqueous Solutions of Poly(N-isopropylacrylamide) as Evidenced by FTIR Spectroscopy. *Langmuir*, v. 16, p. 7503-7509, 2000.

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.

MARK, J. E. *Physical Properties of Polymer Handbook*. 2ª Edição. ed. [S.l.]: Springer, 2006.

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.

- MEID, J.; FRIEDRICH, T.; TIEKE, B.; LINDNER, P.; RICHTERING, W. Composite hydrogels with temperature sensitive heterogeneities: influence of gel matrix on the volume phase transition of embedded poly-(N-isopropylacrylamide) microgels. *Physical Chemistry Chemical Physics*, v. 13, p. 3039-3947, 2011.
- MOURA, M. R. D. Caracterização de matriz polimérica de hidrogel termosensível sintetizada a partir de alginato-Ca²⁺ e poli(Nisopropil acrilamida), do tipo IPN e semi-IPN. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, p. 120. 2005.
- MUNIZ, E. C.; GEUSKENS, G. Compressive Elastic Modulus of Polyacrylamide Hydrogels and Semi-IPNs with Poly(N-isopropylacrylamide). *Macromolecules*, v. 34, p. 4480-4484, 2001.
- 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.
- 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.
- PIRES, G. Biomateriais derivados de Quitosana e Hidroxiapatita com potencial para preenchimento ósseo. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. Campinas, p. 115. 2010.
- RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S. Synthetic Hydrogel for Biomedical Applications. *Hydrogels for Medical and related applications*, 1 junho 1976. 1-36.
- REUFER, M.; DÍAZ-LEYVA, P.; LYNCH, I.; SCHEFFOLD, F. Temperature-sensitive poly(N-isoprpyl-Acrylamide) microgel particles: A light scattering study. *Euopean Physical Journal - Soft Matter*, v. 28, p. 165-171, 2009.
- RIBEIRO, A. A. Biomateriais: Estudo da deposição de Hidorxiapatita por via polimérica sobre superfícies de Ti cp modificado por feixe de laser. Universidade Estadual de Campinas. Campinas - SP, p. 194. 2007.
- RIMMER, S; CARTER, S.; RUTKAITE, R.; HAYCOCK, J.W. 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.

- RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, v. 5, p. 37-42, 1987.
- ROSA, A. L.; SHAREEF, M. Y.; NOORT, R. V. Efeito das condições de preparação e sinterização sobre a porosidade da hidroxiapatita. *Revista Brasileira de Pesquisa Odontológicas*, v. 14, n. 3, p. 273-277, 2000.
- ROSIK, J. M.; YOSHII, F. Hydrogels and their medical applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, v. 151, p. 56-64, 1999.
- SAÇAK, M.; AKBULUT, U.; BATCHELDER, D. N. Monitoring of electroinitiated polymerization of aniline by Raman microprobe spectroscopy. *Polymer*, v. 40, p. 21-26, 1998.
- SÁEZ, V.; HERNÁEZ, E.; ANGULO, L. S. Liberación controlada de fármacos. Hidrogeles. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, v. 4, n. 1, p. 21-91, 2003.
- SAHU, U. S. Electroinitiated polymerization of maleic anhydride with 1,4-dimethylpyridiniumiodide—kinetics of polymerization. *Polymer*, v. 40, p. 3261-3264, 1999.
- SANCHES, J. F. Biomateriais substitutos ósseos na implantodontia. Funorte/Soebras. Manaus, p. 56. 2010.
- SANTOS, M. H. Síntese e Caracterização de Biocompósitos Fosfatos de Cálcio/Colágeno dopados com zinco. Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG. Belo Horizonte, p. 179. 2005.
- SCHILD, H. G. Poly (N-isopropylacrylamide): Experiment, Theory and Application. *Progress Polymer*, v. 17, p. 163-249, 1992.
- SCHMALJOHANN, D. Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 58, p. 1655-1670, 2006.
- SILVA JUNIOR, P. E.; ORÉFICE, R. L. Compósitos Bioativos Obtidos a partir da inserção de vitor bioativo em matriz de Poli(Metacrilato de Metila). *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 11, n. 3, p. 109-115, 2001.
- 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.

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.; FREITAS, R. F. S. Determinação do diagrama de fases do gel termossensível Poli (N-isopropilacrilamida). *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, p. 32-37, julh/set 1995.

SOUSA, R. G.; MAGALHAES, W. F.; FREITAS, R. F. S. Glass transition and thermal stability of poly(N-isopropylacrylamide) gels and some of their copolymers with acrylamide. *Polymer Degradation and Stability*, v. 61, p. 275-281, setembro 1998.

SOUSA, T.H.S.; FORTULAN, C.A.; ANTUNES, E.S.; PURQUERIO, B.M. Projeto e manufatura de uma matriz porosa do compósito PMMA/Hidroxiapatita para implantes bioativos. 17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais. Foz do Iguaçu- PR- Brasil: [s.n.]. 2006. p. 10.

STOOP, R. Smart biomaterials for tissue engineering of cartilage. *Injury, International Journal Care Injured* , v. 39S1, p. 77-87, 2008.

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.

VASILEZ, C; BUMBU, G.G.; DUMITRIU, R.P.; STAIKOS, G. Comparative study of the behavior of carboxymethyl cellulose-g-poly(N-isopropylacrylamide) copolymers and their equivalent physical blends. *European Polymer Journal*, v. 40, p. 1209-1215, 2004.

VIHOLA, H.; LAUKKANEN, A.; VALTOLA, L.; TENHU, H.; HIRVONEM, J. Cytotoxicity of thermosensitive polymers poly(N-isopropylacrylamide), poly(N-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified poly(N-vinylcaprolactam). *Biomaterials*, v. 26, p. 3055-3064, 2005.

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.

WEI, H.; ZHANG, X.Z.; ZHOU, Y.; CHENG, S; ZHUO, R.X. Self-assembled thermoresponsive micelles of poly(N-isopropylacrylamide-b-methyl methacrylate). *Biomaterials*, v. 27, p. 2028-2034, 2006.

- WEI, J.; HE, P.; LIU, A.; CHEN, X.; WANG, X.; JING, X. Surface modification of Hydroxyapatite nanoparticles with thermal-responsive PNIPAm by ATRP. *Macromolecules Bioscience*, v. 9, p. 1237-1246, 2009.
- WU, P.; SIESLER, H. W. The assignment of overtone and combination bands in the near infrared spectrum of polyamide. *Journal Near Infrared Spectroscopy*, v. 7, p. 65-76, 1999.
- YASHODA, M. P.; SHERIGARA, B. S.; VENKATESWARAN, G. Electroinitiated polymerisation of methyl methacrylate mediated by titanium(III)–hydroxylamine redox system: a kinetic study. *Polymer*, v. 41, p. 7381-7389, 2000.
- YILDIZ, G.; YASAR, Y. Investigation of the sol-gel transition of electrochemically prepared acrylamide bisacrylamide gels. *Polymer*, v. 46, p. 12532-12538, 2005.
- ZHAO, Z. X.; LI, Z.; XIA, Q.B.; BAJALIS, E.; XI, H.X.; LIN, Y.S. Swelling/deswelling kinetics of PNIPAAm hydrogels synthesized by microwave irradiation. *Chemical Engineering Journal*, v. 142, p. 263-270, 2008.
- ZHOU, S.; FAN, S.; STEVE, C. F.; WU, C.; YEOUNG, A. Light-scattering studies of Poly (N-isopropylacrylamide) in Tetrahydrofuran and aqueous solution. *Polymer*, v. 36, n. 7, p. 1341-1346, setembro 1995.
- ZOPPE, J. O.; HABIBI, Y.; ROJAS, O.J.; VENDITI, R.A.; JOHANSSON, L.; EFIMENKO, K.; OSTERBERG, M.; LAINE, J. 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.