

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“HIDROGÉIS MAGNETO-REPONSIVOS PARA LIBERAÇÃO  
ESTIMULADA DE FÁRMACOS”**

**Adriel Bortolin \***

Tese apresentada como parte dos requisitos  
para obtenção do título de DOUTOR EM  
CIÊNCIAS, área de concentração: FÍSICO-  
QUÍMICA

**Orientador:** Dr. Caue Ribeiro de Oliveira

\* Bolsista CNPq

**São Carlos - SP  
2018**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química

---

Folha de Aprovação

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado do candidato Adriel Bortolin, realizada em 08/05/2018:



---

Prof. Dr. Cauê Ribeiro de Oliveira  
EMBRAPA



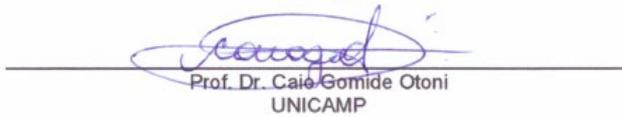
---

Prof. Dr. Emerson Rodrigues de Camargo  
UFSCar



---

Profa. Dra. Sandra Andrea Cruz  
UFSCar



---

Prof. Dr. Caio Gomide Otoni  
UNICAMP



---

Prof. Dr. Fauze Ahmad Aouada  
UNESP

*Dedico esse trabalho a minha família  
Que sempre me apoiou e foi me alicerce  
Ajudando a enfrentar qualquer tipo de  
Dificuldade e a todos que de alguma forma  
Contribuíram para a realização desse trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus pelo milagre da vida, e por ter me abençoado constantemente durante toda a vida dando forças e esperanças frente as dificuldades.*

*Ao Prof. Dr. Caue Ribeiro, pela oportunidade, orientação, amizade, paciência, apoio, discussões e conselhos.*

*Ao Prof. Dr. Fauze Aouada pela orientação, apoio, incentivo e discussões sobre o trabalho.*

*Aos meus pais, padrasto, avós e familiares por toda à atenção, amor e carinho.*

*Ao Prof. Luiz Henrique Capparelli Mattoso, pela orientação dedicada desde a graduação.*

*Ao Dr. Humberto Brandão da EMBRAPA GADO DE LEITE, pelo fornecimento da estreptomicina e discussões sobre o trabalho.*

*A todos os professores do Departamento de Química da UFSCar, em especial aos Profs. André, Gomide, Joaquim, Romeu, Daniel, Elaine e Mattoso, que contribuíram direta ou indiretamente na minha formação acadêmica e pessoal.*

*Aos funcionários da Embrapa-CNPDIA, em especial a Viviane Faria Soares, Alice Raabe, Adriana Thomazi, Silviane Zanni e Matteo por toda ajuda prestada durante a obtenção dos resultados.*

*Aos colegas de sala, pelo convívio, ajuda, atenção, paciência e amizade.*

*Aos colegas do Grupo do Prof. Caue, pelo auxílio e amizade.*

*Aos colegas pessoais, do departamento de Química da UFSCar e Embrapa.*

*Ao órgão de fomento CNPQ, pela concessão da bolsa de doutorado.*

*A Embrapa-CNPDIA por todo o suporte necessário para o desenvolvimento do trabalho.*

*A todos, que de alguma maneira contribuíram para a realização desse trabalho.*

## LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - Nomenclatura e composição dos hidrogéis utilizados.....	24
TABELA 3.1 - Valores de $Q_{eq}$ obtidos para as amostras imersas em água e em solução de estreptomicina (est). .....	38
TABELA 3.2 - Parâmetros $n$ e $k$ para o intumescimento dos hidrogéis em água com e sem a aplicação de campo magnético.....	43
TABELA 3.3 - Valores de $M_r$ e $M_s$ calculados a partir das análises de VSM...	57
TABELA 3.4 - Quantidade de sulfato de estreptomicina carregada para o hidrogel após imerso 120 em solução. ....	58
TABELA 3.5 - Quantidade e porcentagem de estreptomicina liberada pelos hidrogéis. ....	60
TABELA 3.6 - Valores de $R^2$ obtidos para os para os sistemas de liberação utilizando diferentes modelos. ....	75
TABELA 3.7 - Valores da constante de velocidade obtidas para o modelo de pseudo-segunda-ordem para os hidrogéis sintetizados. ....	77
TABELA 3.8 - Valores de massa/diâmetro dos hidrogéis intumescidos em solução de estreptomicina e seu raio de inibição bacteriana em placa petri com e sem a aplicação de campo magnético. ....	81

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 - Representação do recipiente de polimerização utilizado (a) placas de acrílico e (b) espaçador de borracha.....	21
FIGURA 2.2 - Representação esquemática da síntese dos hidrogéis.....	22
FIGURA 2.3 - Fotografia mostrando a interação hidrogel e campo magnético de um ímã comum.....	23
FIGURA 2.4 - Curva genérica de magnetização (M) em função do campo magnético (H) obtida para um material ferromagnético.....	29
FIGURA 2.5 - Representação molecular da estreptomicina.....	32
FIGURA 2.6 - Curva de calibração obtida para a estreptomicina em 200 nm. ..	34
FIGURA 2.7 - Fotografia do espectrômetro de ressonância magnética nuclear SLK-IF-1399 utilizado nos ensaios de liberação.....	34
FIGURA 3.1 - Grau de intumescimento no equilíbrio para os hidrogéis sintetizados em água e solução de estreptomicina.....	36
FIGURA 3.2 - Esquema representativo para hidrogel modificado com carboximetilcelulose e montmorilonita.....	39
FIGURA 3.3 - Ciclos de intumescimento em água para os hidrogéis sintetizados.....	41
FIGURA 3.4 - Cinética de intumescimento dos hidrogéis selecionados em água (a) sem a aplicação de campo magnético e (b) com a aplicação de campo magnético.....	42
FIGURA 3.5 - Exemplo de curvas utilizadas para cálculo dos parâmetros cinéticos, onde $M_t$ é a massa do hidrogel intumescido no tempo t e $M_{eq}$ é a massa do hidrogel intumescido no equilíbrio.....	43
FIGURA 3.6 - Espectro FTIR para o hidrogel puro (PAAm), modificado com CMC (P – C) e modificado com CMC e MMt (P – C – MMt).....	45
FIGURA 3.7 - Espectros FTIR (a) dos modificantes isolados Mag, MMt e hidrogel (PAAm), (P – Mag) e (P – MMt – Mag) e (b) Hidrogel (P – MMt – C) e modificados com 0,5 – 2,0 % de Mag.....	46
FIGURA 3.8 - Espectros FTIR (a) estreptomicina pura e hidrogéis sem a presença de Mag com e sem estreptomicina (b) estreptomicina pura e hidrogel (P – MMt – C - Mag) intumescidos em água e em solução de estreptomicina. .	47
FIGURA 3. 9- Difrátogramas para os hidrogéis sintetizados e Mag e MMt puros.....	49
FIGURA 3.10- Difrátogramas das nanopartículas magnéticas e dos hidrogéis modificados com as nanopartículas.....	50

FIGURA 3.11- Micrografias MEV para os hidrogéis sintetizados. ....	51
FIGURA 3.12- Espectro EDX para o hidrogel P – C – MMt – Mag 2,0. ....	52
FIGURA 3.13- Mapa de EDS para a amostra contendo 2,0% de magnetita (P – C – MMt – Mag 2,0). ....	53
FIGURA 3.14- Tempos de relaxação ( $T_2$ ) para diferentes amostras de hidrogel. ....	54
FIGURA 3.15- Gráficos de VSM para as amostras de hidrogel selecionadas. ..	56
FIGURA 3.16 - Cinética de liberação em g/g (g de estreptomicina/g de hidrogel) liberado (a) sem aplicação de campo magnético (b) com aplicação de campo magnético. ....	62
FIGURA 3.17 - Comparativo da cinética de liberação em porcentagem de estreptomicina liberado (a) sem aplicação de campo magnético (b) com aplicação de campo magnético de baixo campo. ....	63
FIGURA 3.18 - Comparativo da cinética de liberação em porcentagem de estreptomicina para os hidrogéis que contêm as nanopartículas magnéticas. ....	63
FIGURA 3.19- Efeito da aplicação de campo magnético nas amostras após 96 horas de liberação sem a aplicação de campo. ....	65
FIGURA 3.20 - Curvas de liberação para o hidrogel P-MMt-C-Mag 2,0 alternando-se a aplicação de campo magnético (a) início com aplicação de campo e (b) início sem a aplicação de campo. ....	66
FIGURA 3.21 - Perfis de liberação de ativos e apresentação da curva de liberação responsiva. ....	67
FIGURA 3.22 - Aplicação do modelo de Higuchi para o hidrogel P – C – MMt – Mag 2,0. ....	69
FIGURA 3.23 – Exemplo de Curva de $\ln(q_e - q_t)$ x t utilizada para calcular $R^2$ pelo modelo de Higuchi. ....	71
FIGURA 3.24 - Exemplos de curvas utilizadas para cálculos de $R^2$ para o modelo de segunda ordem proposto por Reis. ....	72
FIGURA 3.25 - Curvas de $t/q_t$ x t utilizadas para calcular os parâmetros de liberação pelo modelo de pseudo-segunda-ordem. ....	74
FIGURA 3.26- Esquema representativo das diferenças de modelos de primeira e segunda ordem no processo de liberação de um determinado ativo. ....	76
FIGURA 3.27- Ensaios antimicrobianos para (a) Hidrogel intumescido em água, (b) intumescido em solução de estreptomicina sem a aplicação de campo magnético e (c) intumescido em solução de estreptomicina com a aplicação de campo na liberação. ....	79
FIGURA 3.28 - Representação dos valores do raio de ação de diâmetro dos hidrogéis utilizados nos ensaios de liberação em meio de cultura. ....	80

## Lista de Abreviaturas

AAM = acrilamida

CMC = carboximetilcelulose

DRX = difração de raios X

EDX = Energia Dispersiva de Raios X

FTIR = Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier

$k$  = constante cinética de absorção de água

MBAAM = N'-N-metilenobisacrilamida

MEV = microscopia eletrônica de varredura

$n$  = expoente difusional

PAAm = poliacrilamida / Hidrogel formado por poliacrilamida pura, sem modificantes

P-C = Hidrogel de poliacrilamida modificado com carboximetilcelulose

P-C-Mag = Hidrogel de poliacrilamida modificado com carboximetilcelulose e nanopartículas de magnetita

P-Mag = Hidrogel de poliacrilamida modificado com nanopartículas de magnetita

P-MMt = Hidrogel de poliacrilamida modificado com montmorilonita cálcica

P-MMt-C – Hidrogel de poliacrilamida modificado com montmorilonita e carboximetilcelulose

P-MMt-C-Mag 0,5 = Hidrogel de poliacríamida modificado com montmorilonita, carboximetilcelulose e nanopartículas de magnetita na concentração de 0,5 % (m/m)

P-MMt-C-Mag 1,0 = Hidrogel de poliacríamida modificado com montmorilonita, carboximetilcelulose e nanopartículas de magnetita na concentração de 1,0 % (m/m)

P-MMt-C-Mag 2,0 = Hidrogel de poliacríamida modificado com montmorilonita, carboximetilcelulose e nanopartículas de magnetita na concentração de 2,0 % (m/m)

P-MMt-Mag = Hidrogel de poliacríamida modificado com montmorilonita e nanopartículas de magnetita

Q = grau de intumescimento

Q<sub>eq</sub> = grau de intumescimento em equilíbrio

RMN-DT = Ressonância magnética no domínio do tempo

TEMED = N,N,N',N'- tetrametil-etilenodiamina

VSM = Magnetometria de amostra vibrante

## Resumo

### HIDROGÉIS MAGNETO-REPONSIVOS PARA LIBERAÇÃO ESTIMULADA DE FÁRMACOS

Foram desenvolvidos hidrogéis nanocompósitos modificados com polissacarídeos, argilominerais e nanopartículas magnéticas de óxido de ferro funcionalizadas com material polimérico, possibilitando maior interação entre as nanopartículas e a matriz de hidrogel. Os nanocompósitos foram sintetizados com pequenas quantidades de nanopartículas magnéticas (0,5 – 2,0 % m/m) e em todas as proporções observaram-se propriedades magnéticas, tanto visivelmente pela interação com um ímã quanto experimentalmente através de análises de magnetometria de amostra vibrante (VSM). Os materiais foram submetidos a diversas caracterizações aplicando ou não campo magnético constante de 0,23 Tesla. O campo influenciou diretamente em todas as propriedades dos materiais nanocompósitos, aumentando a velocidade de absorção de água e liberação de um princípio ativo presente na estrutura (estreptomicina), até 5 vezes mais rápida do ativo comparativamente aos materiais sem aplicação de campo magnético. Testes de liberação em culturas de bactérias *Escherichia coli* também mostraram a eficiência bactericida dos hidrogéis carregados com estreptomicina, onde com a aplicação do campo magnético houve um aumento médio de 16,4 % no raio de inibição das bactérias estudadas. O mecanismo de liberação para os hidrogéis segue um modelo de pseudo-2ª ordem, indicando que há a interação entre o ativo e sítios específicos do hidrogel, podendo ocorrer rearranjos no mecanismo de liberação. Os hidrogéis magnéticos apresentaram um comportamento de liberação pulsátil com a aplicação do campo cuja intensidade se mostrou diretamente relacionada com a concentração de nanopartículas utilizadas na síntese dos hidrogéis. Assim, os hidrogéis obtidos apresentam características que possibilitam a aplicação em sistemas responsivos de liberação de fármacos.

**ABSTRACT****MAGNETO-REPONSIVE HYDROGES FOR STIMULATED DRUG RELEASE**

Nanocomposite hydrogels modified with polysaccharides, minerals clay and magnetic nanoparticles of iron oxide functionalized with polymeric material were developed, allowing higher interaction between the nanoparticles and the hydrogel matrix. The nanocomposites were synthesized with small amounts of magnetic nanoparticles (0.5 - 2.0% w/w) and in all proportions magnetic properties were observed, as visibly by interaction with a magnet and experimentally through VSM analysis. The materials were subjected to several characterizations applying constant magnetic field of 0.23 Tesla. The magnetic field influenced directly all the properties of the nanocomposite materials, increasing the rate of water absorption and release of the active principle present in the structure (streptomycin), up to 5 times faster than the active material without application of magnetic field. Release tests on bacterial cultures also showed the bactericidal efficiency of the hydrogels loaded with streptomycin, where with the application of the magnetic field there was an average increase of 16.4 % in the inhibition radius of the bacteria studied. The release mechanism for hydrogels follows a pseudo-2nd order model, indicating the interaction between the active and specific sites of the hydrogel, and rearrangements may occur in the release mechanism. Magnetic hydrogels presented a pulsatile release behavior with the application of the field whose intensity was directly related to the concentration of nanoparticles used in the synthesis of hydrogels. Thus, the obtained hydrogels present characteristics that make possible the application in responsive systems of drugs release.

## SUMÁRIO

Capítulo I: Considerações Iniciais e Revisão Bibliográfica .....	1
1.1. - Apresentação da Tese .....	1
1.2 - Sistemas de liberação controlada .....	2
1.3. - Hidrogéis .....	6
1.4. Polissacarídeos e hidrogéis .....	11
1.5. Argilominerais e hidrogéis .....	12
1.6. Hidrogéis responsivos.....	13
1.7. Nanopartículas magnéticas funcionalizadas.....	16
1.8. Motivação do trabalho .....	19
Capítulo II: Materiais e Métodos Experimentais .....	20
2.1. Síntese dos hidrogéis .....	20
2.2. Nomenclatura e composição dos Hidrogéis. ....	23
2.3. Grau de Intumescimento (Q) .....	25
2.4. Parâmetros cinéticos dos hidrogéis com e sem a aplicação de campo magnético.....	26
2.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Energia Dispersiva de Raios X (EDX).....	27
2.6. Difração de raios-X (DRX) .....	27
2.7. Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	28
2.8. Magnetometria de amostra vibrante (VSM).....	28
2.9. Ressonância magnética no domínio do tempo (RMN-DT).....	29
2.10. Carregamento de estreptomicina .....	30
2.11. Determinação de ativos liberados.....	32
2.12. Liberação de estreptomicina em cultura de bactérias.....	34
Capítulo III: Resultados e Discussão .....	36
3.1. Grau de intumescimento (Q) .....	36
3.2. Ciclos de Intumescimento em água.....	40

3.3. Cinética de intumescimento dos hidrogéis com e sem a aplicação de campo magnético .....	42
3.4. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier – (FTIR) .....	45
3.5. Difração de Raios X – DRX .....	48
3.6. Microscopia eletrônica de varredura – (MEV).....	50
3.7. - Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia – (EDX).....	52
3.8. Ressonância magnética no domínio do tempo (RMN-DT).....	54
3.9. Magnetômetro de amostra vibrante (VSM).....	55
3.10. Carregamento de estreptomicina pelos hidrogéis.....	57
3.11. Liberação de estreptomicina pelos hidrogéis sintetizados.....	59
3.11.1. Aplicação de campo magnético após o equilíbrio de liberação .....	64
3.11.2. Liberação de estreptomicina pelos hidrogéis sintetizados variando-se a aplicação de campo magnético .....	65
3.12. Modelos físico-químicos para liberação de fármacos .....	68
3.12.1. Modelos de Higuchi .....	68
3.12.2. Modelo de pseudo-primeira-ordem.....	70
3.12.3. Modelos cinético de segunda ordem para hidrogéis .....	71
3.12.4. Modelo de pseudo-segunda-ordem .....	73
3.12.5. Comparativo dos modelos cinéticos utilizados .....	74
3.13. Liberação de estreptomicina em cultura de bactérias.....	78
Capítulo IV: Conclusões finais e perspectivas futuras .....	82
Capítulo V: Referências Bibliográficas .....	84

# Capítulo I: Considerações Iniciais e Revisão Bibliográfica

## 1.1. - Apresentação da Tese

Atualmente, o uso de hidrogéis tem se destacado em sistemas de liberação controlada de diferentes moléculas, porém a liberação nestes sistemas apresenta comportamento em geral passivo, ou seja, definido apenas pelas condições de difusão na matriz polimérica. Assim, o desenvolvimento de hidrogéis que sejam responsivos a estímulos externos, tais como temperatura, intensidade luminosa, campos magnéticos, dentre outros, possibilitaria que o processo de liberação fosse modificado remotamente. Há, no entanto, desafios diversos, como definir como o estímulo pode interferir no comportamento de liberação, e quais são as variáveis de síntese do material que podem sofrer efetivamente interferência de tais estímulos.

Assim, o Principal objetivo deste trabalho foi buscar alternativas para a síntese de hidrogéis híbridos modificados com nanopartículas responsivas a estímulos magnéticos externos. Para que o estímulo (campo magnético) pudesse efetivamente produzir modificações no comportamento de liberação, os sistemas deveriam idealmente ser quimicamente ligados, ou seja, em que a superfície da nanopartícula seja covalentemente ligada ao hidrogel de forma a comportar-se como um grupo rígido da cadeia polimérica. Para tal, optou-se por estudar um sistema baseado em poliacrilamida modificada com polissacarídeos, um argilomineral de reforço e nanopartículas de óxidos de ferro, e avaliar esses híbridos frente a sistemas de liberação controlada de um fármaco modelo (estreptomicina) sob aplicação ou não de um campo magnético.

Para melhor organização e apresentação dos resultados, essa tese foi dividida em 5 capítulos:

No capítulo I são abordados conceitos sobre sistema de liberação controlada, hidrogéis em diferentes aplicações com ênfase na aplicação em sistemas de liberação de fármacos e benefícios do uso de hidrogéis responsivos nesses sistemas. São abordados os principais modificantes utilizados nesse trabalho para melhorar as propriedades dos hidrogéis e são apresentados alguns trabalhos na literatura que abordam conceitos de hidrogéis responsivos.

No capítulo II são apresentados os procedimentos experimentais adotados nesse trabalho bem como algumas discussões sobre as técnicas de caracterização utilizadas.

No capítulo III serão apresentados os resultados e discussões obtidas e uma discussão sobre a contribuição desse trabalho para o desenvolvimento de hidrogéis responsivos a estímulos externos.

No capítulo IV serão expostas as conclusões e as considerações mais relevantes do trabalho e perspectivas futuras.

Por fim, o capítulo V apresenta as referências bibliográficas utilizadas.

## **1.2 - Sistemas de liberação controlada**

Os meios convencionais de administração de moléculas ativas (moléculas bioativas ou fármacos) se dão em sua grande maioria por meio de sistemas diluentes solúveis com a finalidade de dissolver as moléculas do ativo visando manter a concentração do composto em uma faixa considerada terapêutica, no entanto, manter a atividade do ativo nessa faixa é um grande desafio.<sup>1</sup> O sistema convencional de administração de um fármaco está representado na FIGURA 1 (linha vermelha), onde a partir da primeira dose ou aplicação a concentração do ativo tem um pico, onde atinge o nível máximo de dissolução. Logo, passa a ser consumido pelo organismo ou pelo meio fazendo-

se necessárias novas aplicações, podendo atingir níveis tóxicos acima da faixa terapêutica, ou níveis ineficazes quando abaixo dessa faixa.

Com o avanço recente da nanotecnologia tem se desenvolvido alternativas aos sistemas convencionais. Essas alternativas são referentes ao desenvolvimento de dispositivos nanoestruturados capazes de encapsular moléculas do princípio ativo e permitir que este seja liberado aos poucos para o meio, sendo esses conhecidos como sistemas de liberação controlada.

A linha verde da FIGURA 1.1 representa o funcionamento de um sistema de liberação controlada genérico, onde em apenas uma aplicação ou dose procura-se manter a concentração do ativo no maior intervalo de tempo possível no nível de interesse ou terapêutico.<sup>4</sup>

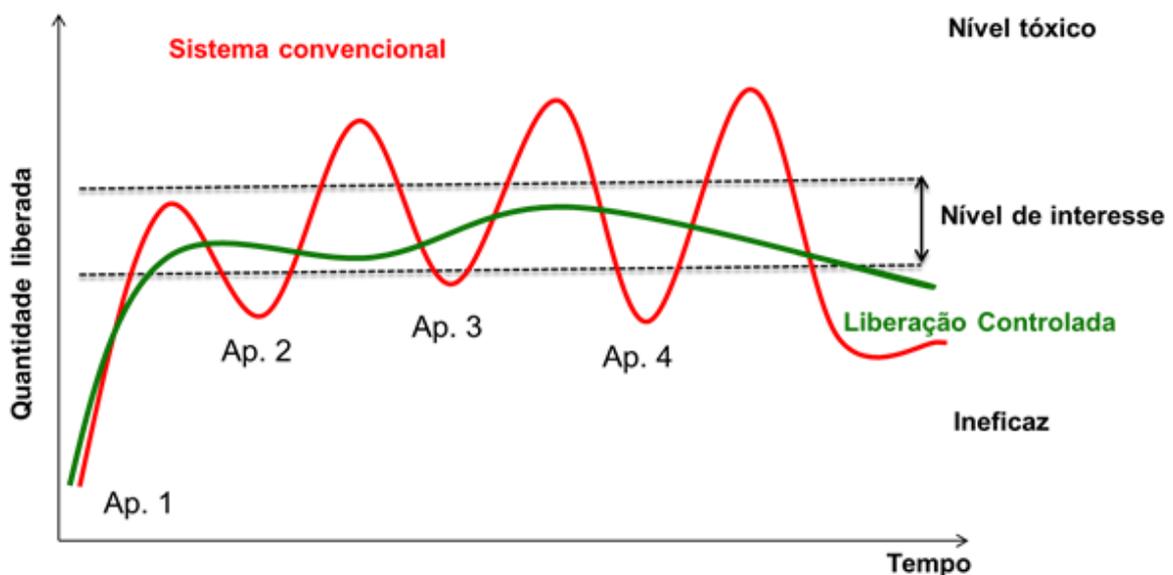


FIGURA 1.1 - Diferença entre os modelos de liberação controlada e o sistema convencional, indicando diferentes momentos de aplicação (AP.) do composto (adaptado de BRANNON-PEPPAS, 1997)<sup>2</sup>.

O principal benefício de um sistema de liberação controlada visando qualquer aplicação (liberação de herbicidas, fertilizantes, fármacos, etc) é

aumentar a eficiência funcional dos princípios ativos, por um longo período em apenas uma única aplicação. Diminui-se, assim, o custo de todo o processo, evitando dosagens tóxicas quando se trata de liberação de fármacos e contaminação ambiental e de trabalhadores, em aplicações agrícolas. Sistemas poliméricos de liberação controlada visam um maior controle na liberação do ativo evitando que atinja os níveis tóxicos ou ineficazes, proporcionando maior controle na liberação de um ativo (reduzindo a quantidade inicial e possibilitando que o perfil de liberação se mantenha na faixa terapêutica por um longo período).<sup>3</sup> Outro fator de extrema importância se dá ao fato de que em sistemas poliméricos pode-se ter um melhor direcionamento do fármaco para regiões de interesse, evitando que o princípio ativo não seja liberado em locais onde não possa ser absorvido pelo organismo. Isto muitas vezes ocorre com fármacos administrados via sistema convencional: por exemplo, alguns medicamentos para tratamento bucal não são absorvidos no sistema gastrointestinal, tendo então um enorme potencial a ser aplicados com polímeros para a liberação controlada diretamente na boca do paciente, aumentando a eficiência do tratamento, reduzindo contaminação e custos.<sup>4</sup>

A resposta satisfatória da aplicação de sistemas de liberação controlada em diversas áreas vem sendo relatada em diversos trabalhos na literatura. Chu & Yagi<sup>5</sup>, em uma aplicação agrícola, concluíram que o uso de fertilizantes em sistemas de liberação controlada melhora a eficiência do nutriente, aumentando sua absorção, diminuindo a frequência de fertilização, reduzindo substancialmente o consumo de recursos humanos, de fertilizantes e possíveis danos ao meio ambiente.

Entretanto a área de maior destaque do uso de sistemas liberação controlada é a área médica, onde materiais poliméricos nanoestruturados carreadores de ativos apresentam potencial para tratamento de uma vasta gama de doenças. Chen et al., 2011 e Lee et al., 2012<sup>6,7</sup> mostraram o potencial de sistemas

poliméricos como alternativa para a quimioterapia tradicional para vários tipos de tumores. Dentre as principais vantagens, os nanocompósitos poliméricos entregam os ativos de maneira otimizada reduzindo os efeitos colaterais em pacientes.<sup>8</sup>

No entanto, a liberação de fármacos por materiais poliméricos é afetada por muitos fatores, e uma vez aplicados, a grande maioria dos sistemas apresenta dificuldades no controle da liberação do ativo. Por exemplo, um dos problemas que podem ocorrer é a liberação rápida do ativo antes de atingir o local do tumor, o que pode causar efeitos colaterais tóxicos e reduzir a concentração de drogas na área alvo. Em contrapartida, o material pode liberar o ativo muito lentamente, o que pode reduzir a eficácia do ativo no local alvo e até mesmo aumentar a resistência das células tumorais. Portanto, a liberação controlada de ativos torna-se o ponto chave do sistema de administração de fármacos. Porém esses sistemas devem apresentar a possibilidade de um acionamento ou modificação do comportamento difusional a partir da aplicação de um estímulo externo. Assim, para superar essas barreiras, polímeros sensíveis ao meio que podem responder a estímulos exógenos (luz, temperatura, ultrassom, campos elétricos e magnéticos) ou mesmo por mudanças no meio para qual o polímero é projetado para liberar (pH, atividade enzimática, propriedades redox) vem sendo extensivamente investigados.<sup>9101112</sup>

Portanto, sistemas poliméricos nano-tecnológicos vêm se destacando como alternativas mais eficazes a tratamentos convencionais para o tratamento de uma vasta gama de doenças. Uma classe de polímeros, forte candidata para aplicação nestes sistemas, é a dos hidrogéis, que podem ser sintetizados com diversos materiais distintos podendo sofrer vários ajustes finos para uma aplicação específica.<sup>13</sup>

### 1.3. - Hidrogéis

Hidrogéis são materiais poliméricos formados por redes poliméricas tridimensionalmente estruturadas, que em determinadas condições podem absorver grande quantidade de água, ou solução de interesse.<sup>14</sup> A história dos hidrogéis iniciou-se ao final da década de 1950: Wichterle e Lím<sup>15</sup> sintetizaram hidrogéis com base no copolímero 2-hidroxietil metacrilato com etileno-dimetilacrilato. Este foi o primeiro hidrogel relatado cientificamente e foi desenvolvido para ser aplicado na área médica, especificamente como lentes de contato. Esses materiais mostraram uma excelente biocompatibilidade e as lentes passaram a ser mais confortáveis que as que existiam até à época.<sup>16</sup> Também no final da década de 1950 surgiram os hidrogéis de poliácridamida, produzidos por uma empresa americana *Monsanto Chemical Company*, que patenteou o produto que recebeu o nome de Krilium e era utilizado como condicionador de solo, porém a tecnologia teve pouca aceitação à época devido ao custo elevado. Na década de 1970, novas empresas começaram a investir fortemente em pesquisa para melhoria desses materiais. O sucesso comercial dos hidrogéis estimulou o interesse de vários pesquisadores e a partir de então surgiram novos trabalhos desenvolvendo hidrogéis “inteligentes” que modificavam suas propriedades após expostos a um estímulo externo.<sup>17,18</sup>

Na década de 1980 surgiram os primeiros hidrogéis com características superabsorventes, o que revolucionou a indústria de higiene pessoal (fraldas e absorventes). Devido à suas características, foram desenvolvidos hidrogéis para diferentes setores industriais, destacando-se a fabricação de produtos de higiene<sup>19</sup>, agricultura<sup>20,21,22</sup>, fármacos<sup>23,24</sup>, aplicações biomédicas<sup>25,26</sup>, engenharia de tecidos e regeneração<sup>27,28</sup>, curativos<sup>29</sup>, materiais de barreira para regular aderências biológicas<sup>30</sup>, biosensores<sup>31</sup>, dentre outras.

De acordo com o tipo de interação os hidrogéis podem ser definidos como temporários ou permanentes. Os temporários são formados por interações físicas e uma vez formados podem ser dissolvidos através de variações de pH, temperatura, e variações de intensidade iônica do meio em que está inserido. Cabe-se ressaltar que essa dissolução das cadeias por estímulos no meio é um processo reversível. Por sua vez, os hidrogéis do tipo permanente ou hidrogéis químicos são formados por reações de polimerização dos monômeros com reticuladores, formando um polímero gelatinoso bastante estável que não pode ser dissolvido facilmente como os hidrogéis físicos, sendo também conhecidos como irreversíveis. Os hidrogéis do tipo químico apresentam melhores propriedades hidrofílicas e capacidade de interação com determinados nutrientes e fármacos.<sup>32</sup> A FIGURA 1.2 mostra um esquema representativo para o hidrogel do tipo químico (a) e físico (b).

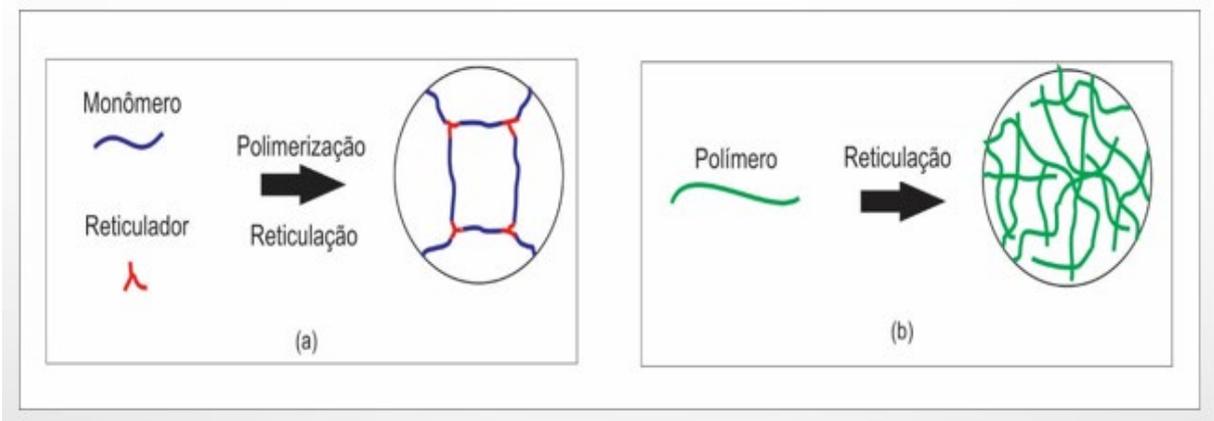


FIGURA 1.2 - Representação de um hidrogel com reticulação química e (b) um hidrogel reticulado fisicamente. Adaptado de Buwalda.<sup>33</sup>

Hidrogéis podem ser formados por polímeros de origem natural, com ou sem modificação química (ácido hialurônico, alginato, amido, quitosana), também conhecidos como hidrogéis naturais, formados por interações físicas, ou podem ser formados por polímeros sintéticos, tais como acrilamida, ácido

metacrílico, dentre outros. Pode-se ainda obter hidrogéis combinando materiais sintéticos com naturais, como por exemplo, polissacarídeos, quitosana, dentre outros, que em muitos casos modificam as propriedades do material obtido.<sup>34</sup>

Os hidrogéis formados pela polimerização de um único tipo de monômero hidrofílico são classificados como homopolímeros, categoria que engloba hidrogéis naturais e também alguns sintéticos dependendo da natureza do monômero e da técnica de polimerização utilizada.<sup>35</sup> Hidrogéis formados por dois ou mais monômeros, sendo pelo menos um deles hidrofílico, são classificados como copolímeros e podem apresentar configurações das cadeias de maneira aleatória, em bloco ou intercalada ao longo da cadeia da rede polimérica.<sup>36</sup> Ainda existem os hidrogéis de cadeia interpenetrada, conhecidos como hidrogéis do tipo IPN, que são formados pela polimerização de dois ou mais monômeros onde um reticula na cadeia polimérica do outro, ou seja, o hidrogel do tipo IPN apresenta cadeias poliméricas entrelaçadas em nível molecular. Outro tipo de hidrogel que é muito utilizado é o semi-IPN, que é característico por apresentar um polímero hidrofílico reticulado e outro linear.<sup>37,38</sup>

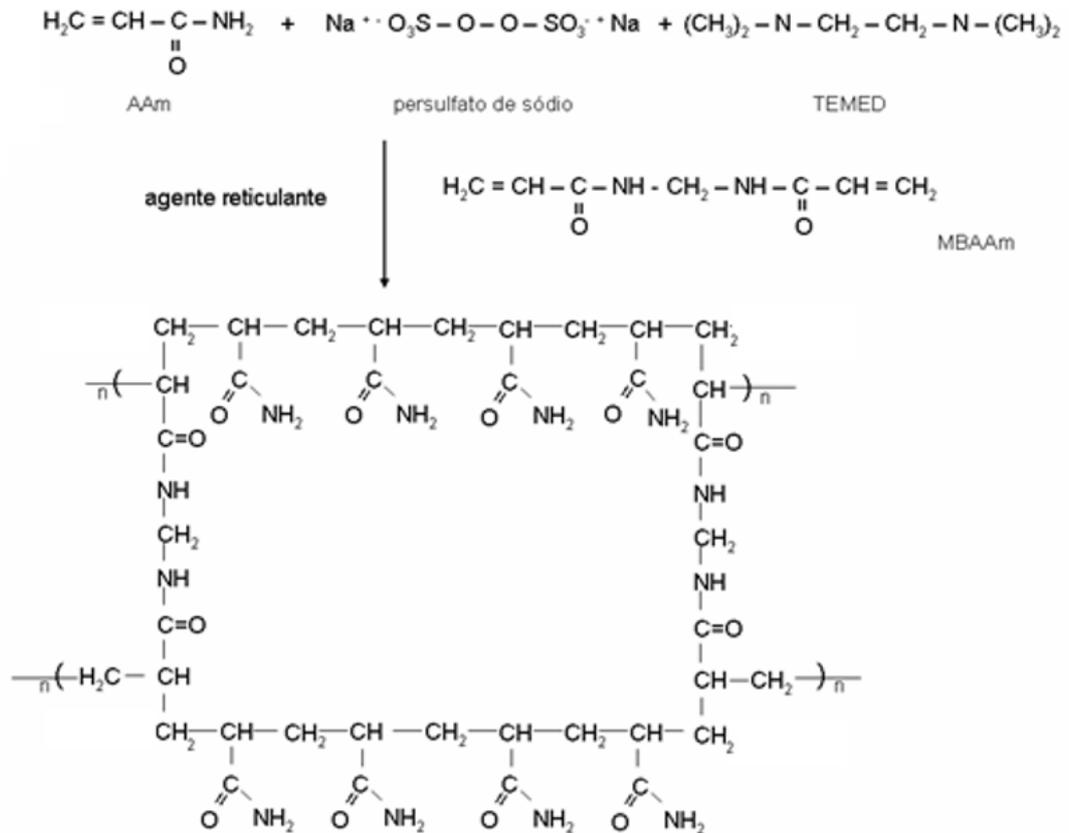


FIGURA 1.3 - Mecanismo de forma\u00e7\u00e3o de hidrog\u00e9is de poliacrilamida proposto por AOUADA.<sup>39</sup>

At\u00e9 hoje, os hidrog\u00e9is de poliacrilamida se destacam entre os demais tipos de hidrog\u00e9is e s\u00e3o aplicados em larga escala na agricultura e tamb\u00e9m s\u00e3o f\u00e1ceis de modificar as suas propriedades por meio da adi\u00e7\u00e3o de outros componentes durante a s\u00edntese do material. Os hidrog\u00e9is de poliacrilamida sintetizados sem modificantes t\u00eam um mecanismo de forma\u00e7\u00e3o proposto por Aouada,<sup>39</sup> conforme indicado na FIGURA 1.3. Por este mecanismo proposto, o TEMED acelera a cis\u00e3o homol\u00edtica do persulfato de s\u00f3dio em radicais que atacam as mol\u00e9culas de AAm gerando s\u00edtios que reagem com as mol\u00e9culas do reticulante MBAAm, que apresenta 2 liga\u00e7\u00f5es C=C em suas extremidades. A liga\u00e7\u00e3o do mon\u00f4mero com o agente de reticula\u00e7\u00e3o forma a estrutura tridimensional do hidrogel.<sup>40</sup>

O monômero acrilamida teve sua toxicidade avaliada em diversos estudos, sendo responsável por doenças leves na pele e olhos e como até mesmo pelo desenvolvimento de câncer em animais.<sup>41,42</sup> No entanto, quando na forma polimérica (poliacrilamida) não apresenta toxicidade significativa. McCollister et al.<sup>43</sup> em um estudo de toxicidade oral aguda de poliacrilamida em ratos observaram que uma única dose oral máxima de 4,0 g/kg de peso corporal foi tolerada, sem qualquer sinal de contaminação tanto aparentemente como por exames de sangue. Christofano et al.<sup>44</sup> relataram um estudo subcutâneo de toxicidade oral em ratos e cães, em que os animais receberam poliacrilamida com uma dose máxima de 464 mg/kg de peso corporal, sem sinais de toxicidade em nenhum animal. Vários estudos de toxicidade oral crônica durante 2 anos em ratos e cães alimentados com dietas contendo até 5% de poliacrilamida não apresentaram efeitos adversos significativos, incluindo comportamento ou aparência.

Guillot et al.<sup>45</sup> avaliaram a tolerância da pele de coelhos exposta a diversas concentrações de poliacrilamida e concluíram que este não irrita a pele. Neste mesmo estudo, concluíram que a poliacrilamida, dentre diversos compostos testados, foi a que apresentou os melhores resultados quanto à irritação cutânea. Resposta similar à encontrada para uma aplicação na pele foi obtida para a região ocular de coelhos, indicando que a poliacrilamida responde muito bem em aplicações biomédicas.

Confirmando a atoxicidade da poliacrilamida, hidrogéis a base de poliacrilamida são empregados como material biomédico, flocculante no tratamento de águas residuais, processamento de alimentos, separação de biomoléculas, dentre outros. Portanto, hidrogéis a base de poliacrilamida, desde que sejam sintetizados e purificados quanto a possíveis monômeros não polimerizados, são excelentes candidatos para a aplicação biomédica proposta nessa tese.

Embora apresentem uma boa capacidade de intumescimento e sejam fáceis de produzir, os hidrogéis constituídos apenas por poliacrilamida apresentam características limitantes quanto a sua aplicação. Porém o método de síntese e a compatibilidade da acrilamida com diversos reagentes permitem que suas propriedades sejam melhoradas a partir da adição de modificantes em sua estrutura.

#### 1.4. Polissacarídeos e hidrogéis

Aouada et al.<sup>46</sup> e Bortolin et al.<sup>47</sup> observaram que a utilização dos polissacarídeos melhora as propriedades hidrofílicas dos hidrogéis e também a capacidade de troca de cargas. O uso de polissacarídeos combinados a hidrogéis também pode ser uma estratégia de aumentar a biodegradabilidade desses materiais. Entre os polissacarídeos possíveis, a carboximetilcelulose (CMC), obtida a partir da celulose, apresenta uma boa solubilidade em água, fator indispensável para a produção de hidrogéis e é biodegradável, facilitando o ataque por fungos e bactérias. A FIGURA 1.4 representa a estrutura química da CMC. Porém o uso de polissacarídeos impacta diretamente na redução da resistência mecânica do polímero, fator de grande importância para uma aplicação em que é necessária a manipulação do material utilizado.

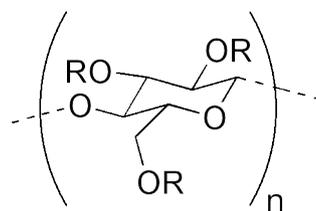


FIGURA 1.4 - Estrutura química representativa da carboximetilcelulose.

## 1.5. Argilominerais e hidrogéis

Outra estratégia de modificação das propriedades de um hidrogel é projetá-lo como compósito ou nanocompósito, nos quais argilominerais (como a montmorilonita (MMt), representada pela FIGURA 1.5) surgem como o material de carga mais imediato e mais estudado. Estes materiais apresentam alta hidrofiliabilidade, alta capacidade de troca de cátions e, conseqüentemente, alta afinidade pelas cadeias hidrofílicas de hidrogéis. Assim, argilominerais em geral podem ser adequadamente incorporados à rede polimérica durante o processo de síntese do hidrogel, permitindo melhorias nas propriedades mecânicas e sorção e desorção de ativos atuando como barreira na estrutura polimérica, retardando processos de liberação e aumentando a interação com determinado ativo.<sup>48,49</sup> Além disso, dependendo da quantidade de argilomineral utilizada, pode-se reduzir consideravelmente o custo do material. No entanto, ele impacta diretamente nos valores de intumescimento.

As montmorilonitas apresentam estrutura lamelar espaçadas em uma distância de 1,35 nm. Essas lamelas são constituídas de 2 folhas tetraédricas espaçadas por uma folha octaédrica e entre essas lamelas estão os cátions compensadores hidratados, que possuem a propriedade de aumentar a interação com determinados ativos, retardando assim a liberação para o meio.

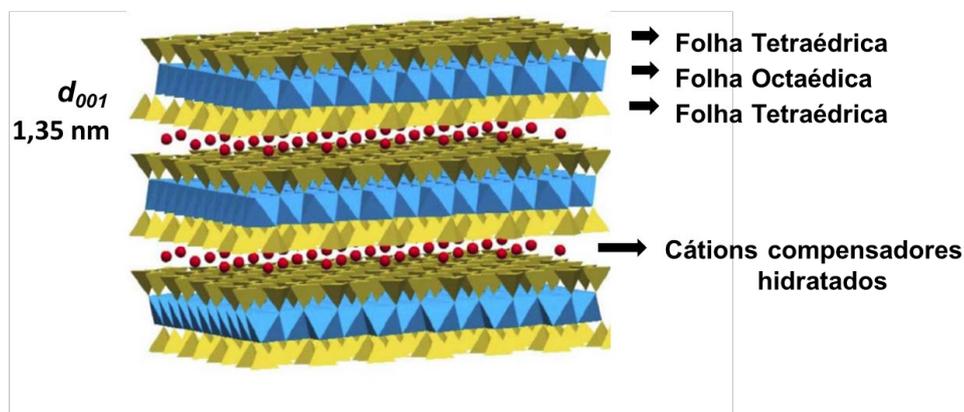


FIGURA 1.5 - Representação das montmorilonitas.

## 1.6. Hidrogéis responsivos

Como retratado até aqui, hidrogéis têm sido estudados em sistemas de liberação controlada de diferentes moléculas (fármacos, fertilizantes, agroquímicos, etc) através dos processos difusionais envolvidos na troca da água de intumescimento, carregada com a molécula de interesse. Significativos avanços no controle deste processo de liberação foram obtidos através da formulação como nanocompósitos, no qual uma carga nanométrica – em geral uma nanoargila – age modificando a resistência mecânica, a capacidade e o tipo de absorção e como uma barreira difusional. Também, polissacarídeos atuam na melhoria do processo de biodegradação e controle de liberação e, ainda, aumentam a capacidade de intumescimento. No entanto, esse processo é limitado à modificação da difusão em si, sem que haja controle externo da liberação.

Porém, nota-se que uma grande quantidade de outras nanopartículas com características funcionais (superparamagnetismo, fotoatividade, etc) são regularmente descritas na literatura, e poderiam ser utilizadas como cargas para estes hidrogéis. Assim, seria possível projetar hidrogéis nanocompósitos responsivos a estímulos externos (como temperatura, campos elétricos e magnéticos, etc.) para que o processo de liberação pudesse ser iniciado ou interrompido remotamente. No entanto, o desafio estaria em conseguir que as propriedades das nanopartículas fossem de fato convertidas em estímulo para a estrutura do hidrogel: por exemplo, a aplicação de um campo magnético, em um hidrogel com nanopartículas magnéticas, precisaria resultar em uma efetiva distorção das cadeias do hidrogel, que permitisse o controle do processo de liberação. Esta propriedade idealmente se desenvolveria nos casos em que o sistema hidrogel – nanopartícula fosse quimicamente ligado, ou seja, a superfície da nanopartícula na estrutura deve ser covalentemente ligada ao hidrogel, de

forma a comportar-se como um grupo rígido da cadeia polimérica, formando assim um hidrogel responsivo.

Hidrogéis responsivos pertencem a uma classe de materiais que podem modificar seu comportamento frente a certas modificações no ambiente externo. Por muitos anos, pesquisadores têm desenvolvido e caracterizado hidrogéis sensíveis apresentando variações de suas propriedades, por exemplo capacidade de absorção de água – quantificada pelo grau de intumescimento, em função do pH, intensidade iônica, temperatura, ou na presença de uma molécula específica.<sup>50,51,52,53,54,55</sup> Em particular, os hidrogéis nanocompósitos responsivos podem exibir propriedades únicas, com capacidade de acionamento a um determinado estímulo. Estudos recentes têm mostrado que os hidrogéis nanocompósitos responsivos à temperatura (nesse caso, responsivo a variação de calor) podem ser acionados por estímulos externos como luz ou o campo magnético e, assim, podem ser utilizados sistemas acionados externamente.<sup>56,57,58,59</sup>

Em particular, o conceito de utilização de campos magnéticos externos para alcançar uma liberação controlada a partir de materiais compósitos foi estudada primeiramente por Langer et al.<sup>60</sup> Os autores demonstraram ser possível controlar externamente a liberação de insulina através da aplicação de um campo magnético oscilante de baixa frequência. Recentemente, Saboktakin et al.<sup>61</sup> mostraram um aumento da liberação de dextrano em nanocompósitos magnéticos a base de colágeno, em condições semelhantes. O sucesso desta estratégia depende de interações entre as partículas magnéticas e efetiva deformação mecânica do hidrogel para modificar as condições de difusão do fármaco.<sup>62,63,64,65</sup>

De certa forma, a efetiva interação entre a nanopartícula e o hidrogel somente pode se dar através de ligações químicas efetivas entre os componentes. Nota-se que, em geral, a interação entre polímero e carga em nanocompósitos

convencionais se van der Waals e ligações de hidrogênio. No entanto, a formação de um material híbrido – ou seja, no qual a carga seja ligada à estrutura do polímero por forças covalentes, fazendo, portanto, parte da estrutura molecular – poderia aumentar a resposta destes sistemas e, inclusive, abrir possibilidades quanto ao uso de mais de um tipo de carga no mesmo sistema, a fim de controlar diferentes propriedades. Este aumento de propriedade foi observado quanto à resistência mecânica para materiais híbridos de quitosana/alumina,<sup>66</sup> na qual uma estratégia *bottom-up* de montagem da estrutura se mostrou efetiva para garantir as interações. Porém, Liff et al.<sup>67</sup> demonstraram esse conceito em uma poliuretana elastomérica, onde parte dos grupamentos rígidos foram quimicamente substituídos por nanopartículas de laponita, com ganho muito superior em propriedades.

Até o momento, este conceito foi pouco explorado para hidrogéis poliméricos. No entanto, alguns destes materiais são polímeros de condensação ou de adição (como é o caso da PAAm), compreendendo vários grupamentos reativos como  $-C=C-$ , e  $-OH$  terminais, que possibilitam a formação de copolímeros durante a síntese. Assim, é quimicamente possível reagi-los com superfícies com grupamentos ácidos, como por exemplo, nanopartículas funcionalizadas. Dentre os métodos de síntese capazes de preparar materiais funcionalizados, o método solvotérmico é um dos que mais se destaca: nesta síntese o solvente orgânico atua não somente como o solvente da solução, mas pode atuar também como ligante orgânico e surfactante e ser fonte de oxigênio para a formação de óxidos. A adição de nanopartículas magnéticas permitiria que a liberação ocorresse em uma área ou momento específico.<sup>68</sup> Os estímulos magnéticos adequados podem ser usados para induzir deformações controláveis da matriz do nanocompósito e controlar remotamente a liberação de agentes encapsulados.<sup>69</sup> Além disso, as nanopartículas de magnetita podem conferir novas

funcionalidades valiosas para outras aplicações, incluindo imagens de alto contraste em raio-X, dentre outras.<sup>70</sup>

O sucesso de um sistema de liberação controlada de ativos, sejam eles insumos agrícolas ou fármacos, é determinado pela cinética de liberação do composto, que depende do mecanismo de liberação. Por exemplo, recentes estudos sobre nanocompósitos (carragena/magnetita) têm produzido hidrogéis responsivos com potencial para aplicações na liberação de insumos e podem ser magneticamente e/ou termicamente ativados.<sup>71</sup> Nesse trabalho, os autores relataram o estudo das propriedades de intumescimento e cinética de liberação de um fármaco modelo a partir de hidrogéis nanocompósitos de magnetita usando carragena como a matriz e azul de metileno como fármaco modelo.

Parâmetros que afetam a difusão do composto e as propriedades físicas do nanocompósito (por exemplo, massa molar e natureza do composto, concentrações dos constituintes do polímero, densidade de ligações cruzadas e interações composto-polímero, etc) determinam o mecanismo dominante de liberação.<sup>72</sup> Apesar de nanocompósitos baseados em hidrogéis contendo nanopartículas estarem sendo cada vez mais investigados para aplicações de liberação de determinados compostos, o papel destas nanopartículas sobre o mecanismo de liberação por hidrogéis ainda não é claro.<sup>73,74,75</sup>

### **1.7. Nanopartículas magnéticas funcionalizadas**

Para garantir que os materiais sintetizados fossem responsivos à aplicação de um estímulo externo, no caso a um campo magnético, uma possibilidade é utilizar nanopartículas magnéticas de óxido de ferro, que são um dos nanomateriais magnéticos mais utilizados e estudados devido à sua biocompatibilidade e atoxicidade, permitindo a aplicação em sistemas *in vivo*. Entretanto, a estratégia para otimizar a síntese dos hidrogéis com essas nanopartículas de modo a obter uma maior reatividade com as cadeias do

polímero envolve a funcionalização das nanopartículas com grupos orgânicos que possam promover reações de polimerização. A magnetita –  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  – é um dos mais estudados, e pode ser facilmente obtido pelo método solvotérmico a partir de acetilacetonato de ferro II ( $\text{Fe}(\text{acac})_3$ ).<sup>46,47</sup> Por exemplo, Pinna et al.<sup>76</sup> obtiveram nanopartículas de magnetita a partir da dissolução de  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  em álcool benzílico, seguida de solvothermalização em temperaturas que variaram de 175 a 200 °C, sem a adição de surfactantes. Estes autores obtiveram nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  monofásicas e com tamanho médio na ordem de 12 a 25 nm, com superfícies fortemente funcionalizadas com o ácido orgânico.

Silva et al.<sup>77</sup> desenvolveram e otimizaram a síntese de nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro pelo método solvotérmico com álcool benzílico, obtendo-se assim nanopartículas de magnetita recobertas por uma fina camada de polibenzileno, representadas pela FIGURA 1.6. As nanopartículas obtidas mostraram-se muito estáveis mesmo em condições agressivas, indicando essas nanopartículas como fortes candidatas a se ligar na cadeia do hidrogel. Ao incorporar essas nanopartículas funcionalizadas durante a síntese dos hidrogéis, obtêm-se hidrogéis magneto-responsivos.

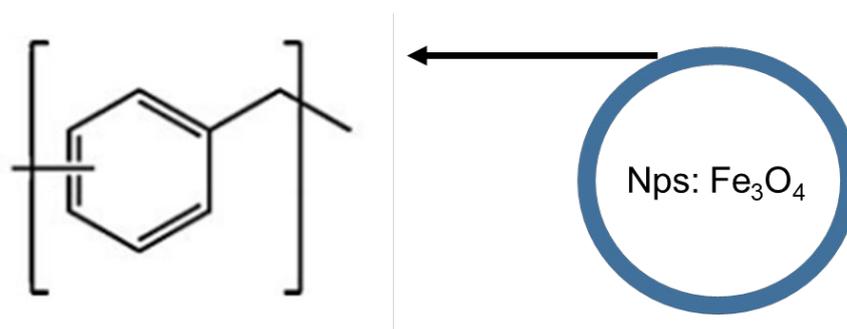


FIGURA 1.6 - Esquema representativo para as nanopartículas funcionalizadas utilizadas na síntese dos hidrogéis.

Assim, desta breve revisão bibliográfica, nota-se que o uso de hidrogéis como materiais de liberação controlada pode ser significativamente

expandido através do projeto de sistemas híbridos responsivos, no qual a formulação de um sistema nanoestruturado na qual nanopartículas sejam parte da estrutura polimérica pode modificar significativamente a resposta do sistema. Um sistema modelo é a inclusão de nanopartículas magnéticas na cadeia polimérica durante o processo de polimerização (ou seja, formando um copolímero em bloco), de forma que a aplicação de campos magnéticos possa distorcer o arranjo estrutural do hidrogel e, com isso, modificar seu comportamento de difusão. Depois de compreendido, este modelo pode ser estendido para outras nanopartículas, como sistemas fotoativos ou piezo elétricos, desde que as condições de síntese e funcionalização superficial das nanopartículas se mantenham.

Com a adição de nanopartículas funcionalizadas a matriz polimérica dos hidrogéis, espera-se que suas propriedades sejam modificadas, passando a responder a um estímulo externo, no caso desse trabalho a adição das nanopartículas de magnetita funcionalizadas. Partiu-se da hipótese de que a adição dessas nanopartículas junto a cadeia do material poderiam modificar o perfil de liberação frente a aplicação remota de um campo magnético.

Assim, esta Tese teve o objetivo de investigar os processos de preparação de hidrogéis quimicamente ligados a nanopartículas, e seu comportamento frente a aplicação de campo magnético em aplicações de liberação controlada de fármacos. Este material diferencia-se de nanocompósitos encontrados na literatura pela proposta de ligar covalentemente as partículas como partes funcionais do hidrogel, caracterizando-se assim como uma estrutura híbrida orgânico-inorgânica.

## 1.8. Motivação do trabalho

Os sistemas de liberação controlada utilizando materiais poliméricos apresentam inúmeras vantagens em relação a tratamentos convencionais, porém ainda existem pontos falhos na aplicação desses sistemas, tal como a impossibilidade de interromper a ação farmacológica de um sistema que já esteja em liberação no caso do paciente apresentar alguma ação contrária ao fármaco (irritação, reações alérgicas, etc.).<sup>78</sup> Portanto, este trabalho trouxe a possibilidade de sintetizar hidrogéis quimicamente ligados a nanopartículas funcionalizadas, no qual os materiais híbridos obtidos apresentaram a atividade das nanopartículas magnéticas, o que possibilita mudanças nos perfis de liberação convencionais permitindo a obtenção de materiais magneto-responsivos que modificam suas propriedades a partir de um estímulo externo. Cabe-se ressaltar que, utilizando a mesma metodologia e baseando-se nos conhecimentos adquiridos neste trabalho, pode-se desenvolver hidrogéis responsivos a diferentes estímulos, cuja resposta está relacionada ao comportamento da nanopartícula responsiva adicionada à estrutura dos hidrogéis, o que possibilita o desenvolvimento de materiais mais eficientes que podem ser aplicados em diversos setores.

## Capítulo II: Materiais e Métodos Experimentais

### 2.1. Síntese dos hidrogéis

Os hidrogéis constituídos basicamente por poliacrilamida (PAAm) foram obtidos por meio de polimerização química do monômero acrilamida (AAm, Sigma-Aldrich) em solução aquosa contendo ou não modificantes e/ou nanopartículas de magnetita. Um agitador mecânico em velocidade constante foi utilizado para misturar e homogeneizar os reagentes: partiu-se de uma solução do monômero AAm com concentração de  $0,50 \text{ mol.L}^{-1}$ , seguidas pela adição de CMC, que quando presente no hidrogel na proporção de  $4,8 \text{ g.L}^{-1}$  na solução de hidrogel. A MMt quando presente no material foi mantida em 25,0% (m/m) em relação a quantidade de AAm, CMC e MBAAm. As nanopartículas magnéticas funcionalizadas foram adicionadas nas proporções 0,0 a 2,0 % (m/m). Cada reagente foi adicionado a mistura respeitando-se o intervalo de 10 min sob agitação entre a adição de um reagente e outro para melhor homogeneização do meio, na solução resultante foi adicionado o agente de reticulação metileno bis-acrilamida (MBAAm, Sigma-Aldrich) na quantidade em massa referente a 2,3 % a quantidade de AAm utilizada. O catalisador N,N,N',N'-tetrametil-etilenodiamina (TEMED, Sigma-Aldrich)  $3,30 \mu\text{mol mL}^{-1}$  foi mantido constante em todos os hidrogéis. A solução obtida foi transferida para banho de ultrassom, onde nitrogênio gasoso foi borbulhado no sistema por 20 minutos. Nesta etapa, as nanopartículas magnéticas funcionalizadas se dispersaram totalmente, indicando possíveis reações das NP's com as cadeias do hidrogel. Após a aplicação do nitrogênio, adicionou-se  $3,50 \mu\text{mol mL}^{-1}$  persulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ , Sigma-Aldrich) com intuito de iniciar a reação de polimerização via radicais livres. A solução obtida foi transferida para recipientes formados por 2 placas de acrílico espaçadas por um objeto de borracha de modo com que os

materiais finais fossem obtidos em membranas, permanecendo a solução final em repouso por 24 horas para polimerização. A FIGURA 2.1 mostra o sistema utilizado para a obtenção dos materiais em membrana.

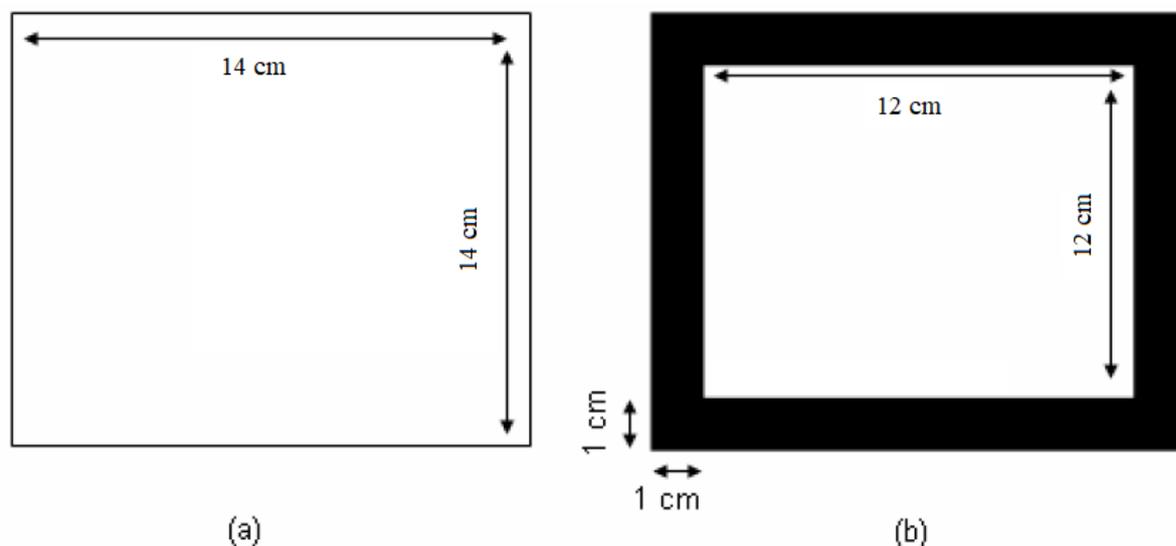


FIGURA 2.1 - Representação do recipiente de polimerização utilizado (a) placas de acrílico e (b) espaçador de borracha.

Após a polimerização, as membranas de hidrogéis foram transferidas para recipientes com água destilada e submetidas durante 4 dias a tratamento de purificação por meio de diálises para remover resíduos ou impurezas de monômeros de AAm que não participaram da reação de polimerização. A seguir, os materiais foram cortados em formato cilíndrico com diâmetro de 2,4 centímetros e foram secos à 60 °C em estufa, obtendo-se as amostras utilizadas nesse trabalho. Para melhor visualização a FIGURA 2.2 traz um esquema representativo da síntese dos hidrogéis.

Todos os hidrogéis obtidos apresentaram-se visualmente homogêneos e todos os materiais contendo as nanopartículas magnéticas apresentaram atividade magnética na presença de um ímã comum. A FIGURA 2.3 mostra uma fotografia digital do hidrogel (P – C – MMt – Mag 1,0) seco em

contato com um ímã. Quando o hidrogel absorve água, a relação massa total por quantidade de nanopartículas magnéticas aumenta significativamente, porém, mesmo em condições máximas de intumescimento todos os materiais apresentaram comportamento magnético na presença de ímã.



FIGURA 2.2 - Representação esquemática da síntese dos hidrogéis.



FIGURA 2.3 - Fotografia mostrando a interação hidrogel e campo magnético de um imã comum.

## 2.2. Nomenclatura e composição dos Hidrogéis.

Baseando-se nos trabalhos de AOUADA et al<sup>79</sup> e BORTOLIN et al<sup>80</sup>, onde se chegou a conclusões relativas a proporções dos principais reagentes da síntese de hidrogéis de poliacrilamida (PAm, agente de reticulação, TEMED e persulfato de sódio), foi desenvolvida uma síntese alternativa na qual utilizou-se agitadores mecânicos e banho de ultrassom em substituição ao agitador magnético para o campo magnético não influenciar na dispersão das nanopartículas magnéticas funcionalizadas. Essas nanopartículas não são solúveis em água e também não se dispersam facilmente. Porém, durante a síntese dos hidrogéis que continham essas nanopartículas, notou-se que elas se dispersavam no meio totalmente após a adição de nitrogênio gasoso no sistema antes da adição do persulfato de sódio, um indicativo de que ao remover moléculas de oxigênio que estavam estabilizando os sítios ativos do hidrogel tais nanopartículas se ligam

imediatamente no espaço gerado, ficando quimicamente ligadas na estrutura do material.

Para avaliar o efeito de cada modificante utilizado na síntese dos hidrogéis foram sintetizados 10 materiais diferentes, partindo do material de poliacrilamida puro (PAAm), o de policrilamida com apenas um dos modificantes separados, com dois componentes e com todos os modificantes variando as concentrações das nanopartículas magnéticas de 0 a 2,0%. A TABELA 2.1 apresenta a nomenclatura escolhida e a concentração dos principais modificantes dos hidrogéis de poliacrilamida. As concentrações de MMt e CMC quando presentes no hidrogel foram de 25,0 % e 6,0 % (m/m), respectivamente.

TABELA 2.1 - Nomenclatura e composição dos hidrogéis utilizados.

<b>Hidrogel</b>	<b>Composição</b>
<b>PAAm</b>	100% PAAm
<b>P-C</b>	PAAm + CMC
<b>P-Mag</b>	PAAm + Mag
<b>P-MMt</b>	PAAm + MMt
<b>P-C-Mag</b>	PAAm + CMC + Mag
<b>P-MMt-C</b>	PAAm + MMt + CMC
<b>P-MMt-Mag</b>	PAAm + MMt + Mag
<b>P-MMt-C-Mag 0,5</b>	PAAm + MMt + CMC + Mag 0,5%
<b>P-MMt-C-Mag 1,0</b>	PAAm + MMt + CMC + Mag 1,0%
<b>P-MMt-C-Mag 2,0</b>	PAAm + MMt + CMC + Mag 2,0%

### 2.3. Grau de Intumescimento (Q)

A capacidade de absorção de água dos hidrogéis foi investigada a partir de medidas de grau de intumescimento (Q) em diferentes meios. O grau de intumescimento é calculado como a razão entre a massa do hidrogel intumescido e a massa do hidrogel seco conforme indicado pela equação 2.1.<sup>81,82</sup>

$$Q = \frac{M_t}{M_s} \quad \text{Equação 2.1}$$

onde  $M_t$  é massa do hidrogel no tempo  $t$  e  $M_s$  é massa do hidrogel seco.

Para as análises os hidrogéis foram colocados diretamente em contato com água Milli-Q<sup>®</sup> ou solução de estreptomicina. Os valores de grau de intumescimento foram monitorados em tempos pré-determinados com o objetivo de acompanhar a cinética de intumescimento. Esse monitoramento se deu por medidas de massa das amostras em balança analítica partindo-se dos materiais completamente secos imersos por até 96 horas em água ou solução de estreptomicina. Posteriormente ao tempo de imersão, não se notou variação significativa de massa do hidrogel, concluindo-se então que, nesse período, o material atingiu o equilíbrio de intumescimento ( $Q_{eq}$ ). Todas as medidas de intumescimento foram realizadas em triplicata para reduzir os erros experimentais.

Foi avaliada também a capacidade dos hidrogéis entre um ciclo de intumescimento e outro. Ciclo de intumescimento é o processo completo em que o hidrogel seco é intumescido até o equilíbrio e seco novamente. Para avaliar as perdas de propriedades hidrofílicas dos hidrogéis foram realizados 7 ciclos de intumescimento onde foi monitorada a perda da capacidade hidrofílica.

## 2.4. Parâmetros cinéticos dos hidrogéis com e sem a aplicação de campo magnético

Foi avaliado o efeito da aplicação de um campo magnético no processo da cinética de intumescimento. Dessa forma, foi monitorada a variação de massa dos hidrogéis selecionados em função do tempo de imersão em água. Para esse teste foram escolhidos materiais com todos os modificantes, onde a concentração das nanopartículas foi variada de 0,5, 1,0 e 2,0 % (m/m) tendo como comparativo o hidrogel (P – C – MMT), ou seja, sem as nanopartículas. Para a avaliação dos parâmetros cinéticos dos hidrogéis baseou-se nas leis de Fick e para todas as análises utilizaram-se hidrogéis no formato cilíndrico. A primeira lei de Fick relata que a velocidade de difusão é diretamente proporcional ao gradiente de concentração e inversamente proporcional à distância, logo, a água no início do processo de intumescimento irá se difundir mais rapidamente na parte que estiver em contato com a água.

O cálculo dos parâmetros cinéticos dos hidrogéis foi realizado utilizando-se a equação 2.2, derivada da lei de Fick.<sup>83,84</sup>

$$\frac{M_t}{M_{eq}} = kt^n \quad \text{Equação 2.2}$$

onde  $t$  é o tempo,  $k$  é a constante cinética de difusão de água para o interior do hidrogel,  $n$  é o expoente difusional,  $M_t$  é a massa do hidrogel em um tempo “ $t$ ” de intumescimento e  $M_{eq}$  é a massa do hidrogel no estado de equilíbrio.

A Equação pode ser aplicada desde os estágios iniciais até aproximadamente 60 % da curva de intumescimento,<sup>85</sup> visto que nesse estágio o aumento do grau de intumescimento é praticamente linear. Após esse estágio o hidrogel passa a diminuir sua velocidade de intumescimento, pois está próximo

ao ponto de equilíbrio, ou seja, praticamente não sofre mais variações de massa consideráveis em função do tempo e a inclinação da reta é praticamente nula (tangente  $\approx 0$ ). Para o cálculo de  $n$  e  $k$ , a partir da equação 2.2, foram feitos gráficos de  $\ln M_t/M_{eq}$  vs  $\ln t$  para cada ensaio, onde o parâmetro difusional  $n$  foi obtido a partir do coeficiente angular da reta e a constante cinética  $k$  a partir do coeficiente linear. Para minimizar os erros experimentais, todas as medidas foram realizadas em triplicata.

## **2.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Energia Dispersiva de Raios X (EDX)**

Para as análises de MEV, partiu-se de hidrogéis intumescidos até o equilíbrio. As diferentes amostras foram imersas em nitrogênio líquido e liofilizadas por 48 horas, período que garante a completa secagem das amostras.<sup>72,73</sup> Com esse procedimento, a estrutura porosa do hidrogel não é colapsada, assegurando assim que todas as características morfológicas obtidas para os hidrogéis secos podem ser utilizadas para hidrogéis no estado de intumescimento.<sup>74</sup> As micrografias dos hidrogéis foram obtidas utilizando um MEV Jeol 6510 ou um equipamento FEG-SEM Jeol 6701.

## **2.6. Difração de raios-X (DRX)**

Esta técnica de caracterização foi utilizada para investigar o processo de síntese das nanopartículas (através da determinação da fase obtida) e para observar as mudanças na estrutura cristalina dos hidrogéis provocadas pela adição dos modificantes do hidrogel. Para isso, foi utilizado um difratômetro de raios-X modelo Shimadzu LabX XDR-6000, operando com voltagem de aceleração do tubo de emissão de 30 kV, corrente de 30 mA e radiação Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 0.154$  nm).

A velocidade de varredura utilizada foi de  $1,0^{\circ} \text{ min}^{-1}$  com leitura de ângulo de Bragg entre  $3$  e  $60^{\circ}$ .

## **2.7. Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

A espectroscopia FTIR foi realizada para observar possíveis deslocamentos de bandas características dos hidrogéis de poliacrilamida ocasionados pela adição de modificantes e diferentes quantidades de nanopartículas magnéticas durante a síntese. Foi utilizado o espectrômetro de infravermelho da marca Bruker, modelo Vertex 70 com software opus v7.2. Realizaram-se medidas diretamente nas amostras secas em leitura por refletância atenuada (ATR). Espectros de FTIR foram obtidos registrando 32 varreduras de  $400$  a  $4000 \text{ cm}^{-1}$ . Análises detalhadas foram feitas para determinar a interação específica entre grupos moleculares.

## **2.8. Magnetometria de amostra vibrante (VSM)**

Para observar a atividade magnética dos hidrogéis sintetizados foram realizadas análises de VSM em parceria com o Instituto de Física da UFSCar. Para as análises foi utilizado magnetômetro (MPMS  $\text{\textcircled{R}}$  3) com sensibilidade de  $\leq 10^{-8}$  emu e que combina a tecnologia de sensor SQUID (Quantum Design  $\text{\textcircled{C}}$ ) com um magnetômetro de amostra vibrante VSM. Foram preparadas as amostras dos hidrogéis intumescidos variando a carga de Mag de  $0,0$  a  $2,0 \%$  (m/m), do hidrogel intumescido em solução de estreptomicina e hidrogel contendo  $2,0\%$  de Mag seco. As amostras analisadas foram colocadas e fixadas em cápsulas de comprimido.

As análises ocorreram em temperatura ambiente ( $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e foi aplicado um campo magnético variando de  $-70$  a  $70\text{kOe}$  ( $7\text{T}$ ) com uniformidade de  $0,01\%$  em  $4 \text{ cm}$ . A taxa de carregamento do campo utilizada foi de  $25 \text{ Oe/s}$ .

Quando se mede a magnetização em função de um campo magnético aplicado (análise de VSM) de um material ferromagnético, obtém-se um ciclo como o representado na FIGURA 2.4, onde a curva obtida é denominada curva de histerese. A histerese magnética é característica de materiais ferromagnéticos e se dá através da aplicação de um campo magnético ao material até a saturação. Quando esse campo magnético é diminuído, a densidade de fluxo não acompanha na mesma proporção.

Pode-se observar na figura algumas regiões destacadas, onde o campo coercivo ( $H_c$ ) é o campo necessário para desmagnetizar o material,  $M_r$  é a magnetização resultante quando o campo magnético é nulo e  $M_s$  é a magnetização de saturação, que é a magnetização máxima obtida.

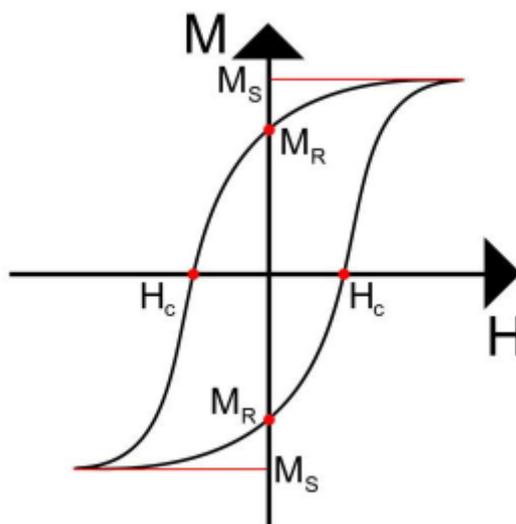


FIGURA 2.4 - Curva genérica de magnetização (M) em função do campo magnético (H) obtida para um material ferromagnético.

## 2.9. Ressonância magnética no domínio do tempo (RMN-DT).

Os experimentos de RMN-DT foram feitos no espectrômetro Minispec Mq20 de campo  $B_0 = 0.5$  T fabricado pela Bruker®, que proporciona

uma frequência de precessão de aproximadamente 20 MHz para o núcleo de  $^1\text{H}$ . O tempo de relaxação transversal ( $T_2$ ) foi determinado utilizando a sequência de pulso desenvolvida por Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG)<sup>86,87</sup>, com os seguintes parâmetros:  $T = 0,5$  ms, 30.000 ecos, 16 scans, 5 s de tempo de repetição,  $tp_{90} = 3,62$   $\mu\text{s}$ ,  $tp_{180} = 7,38$   $\mu\text{s}$  e temperatura de 40 °C.

Para o preparo das amostras, uma porção de aproximadamente 0.05 g dos hidrogéis intumescidos foi colocada no tubo de RMN com diâmetro de 10 mm. A seguir acrescentou-se um volume de 2 mL de água deionizada e, posteriormente, o tubo foi colocado no espectrômetro para fazer as medidas de tempos de relaxação transversal a cada 5 minutos. Este procedimento foi realizado para as 4 amostras, com concentração de nanopartículas de 0,0 a 2,0 % (m/m), para observar o efeito das nanopartículas na magnetização dos hidrogéis.

## 2.10. Carregamento de estreptomicina

O carregamento de estreptomicina pelos hidrogéis foi realizado a partir de uma solução de intumescimento de estreptomicina com concentração de 116,4  $\text{g.L}^{-1}$ , valor inferior a saturação a 25 °C, de modo que fosse possível identificar mudanças na concentração da solução de intumescimento inicial e final, permitindo a quantificação da estreptomicina sorvida pelas amostras de hidrogel. A quantidade de estreptomicina carregada pelos hidrogéis imersos na solução de intumescimento após 120 horas foi determinada pela equação 2.3:

$$q_t = Q_i + (C_0 - C_t) \frac{V}{m} \quad \text{Equação 2.3}$$

onde  $q_t$  é a quantidade de estreptomicina adsorvida;  $Q_i$  é quantidade de estreptomicina sorvida relacionada ao intumescimento desconsiderando a afinidade entre hidrogel e ativo,  $C_0$  e  $C_t$  é a concentração de estreptomicina na

solução de intumescimento inicial e final, respectivamente;  $V$  é o volume da solução de intumescimento e  $m$  é a massa do hidrogel seco.

A equação 2.3 é apresentada pela primeira vez nessa tese. Até então, o modelo utilizado para calcular a quantidade de ativo adsorvido/sorvido por hidrogéis considera a quantidade de ativo sorvida quando  $C_0 = C_t$ , sendo nula. Porém o fato das concentrações  $C_0$  e  $C_t$  serem iguais, significa que o hidrogel tem a mesma afinidade tanto pelo ativo como pela água, e a quantidade de ativo sorvida pelo hidrogel nessa condição se dá pelo parâmetro  $Q_i$  proposto nessa tese de doutorado, que é relacionado a quantidade de ativo incorporado considerando-se apenas o grau de intumescimento da amostra.

A segunda parte da equação 2.3 diz se o hidrogel tem mais afinidade pelo ativo ou pela água, por exemplo: Se a concentração de estreptomicina aumenta na solução de intumescimento, o hidrogel tem mais afinidade pela água do que pelo ativo. O caso mais comum é quando a concentração de ativo reduz, ou seja,  $C_f < C_0$ , que implica que o hidrogel está removendo o ativo da solução, portanto é um ajuste diretamente relacionado a interação do hidrogel com o ativo.

O fármaco modelo escolhido para ser usado nos sistemas de carregamento e liberação foi a estreptomicina, que é um antibiótico muito utilizado para o tratamento de diversas doenças em animais e pode ser administrada via tópica ou intramuscular dependendo da doença apresentada. No caso de doenças tópicas (mastite, vibriose, entre outras) os sistemas de aplicação se dão diluindo a estreptomicina em meio oleoso e a aplicação pode ocorrer diariamente por vários dias consecutivos. O meio oleoso tem a finalidade de dispersar e retardar o processo de liberação do fármaco na pele do animal. A FIGURA 2.5 mostra a fórmula molecular da estreptomicina.

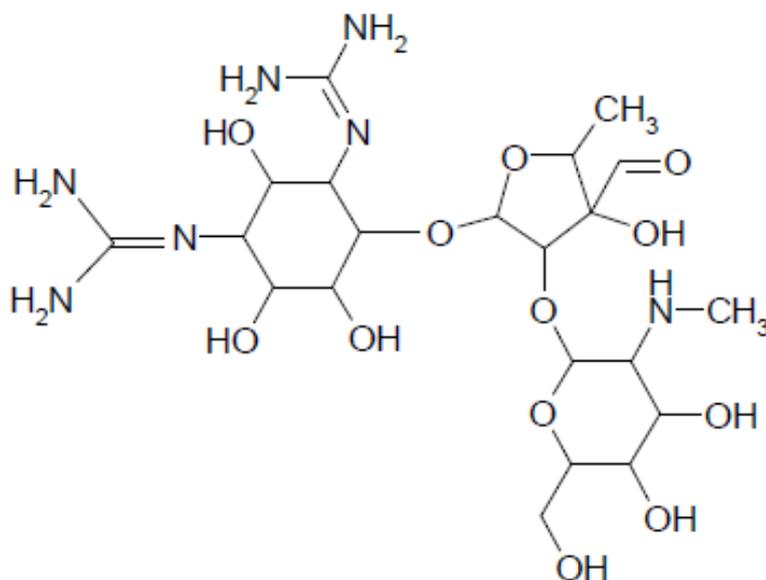


FIGURA 2.5 - Representação molecular da estreptomicina.

Pode-se notar que na molécula de estreptomicina existem diversos sítios ativos que podem interagir com os hidrogéis sintetizados de modo que a liberação do composto seja retardada devido a esta interação. A escolha da estreptomicina também decorreu pela sua alta solubilidade em água, visto que a incorporação de ativos em hidrogéis é influenciada pela solubilidade dos mesmos.

### 2.11. Determinação de ativos liberados

As propriedades de liberação de estreptomicina foram estudadas em sistemas de liberação *vs* tempo por meio de testes cinéticos em meio a tampão fosfato (PBS) simulando a composição sanguínea. O preparo da solução tampão se deu diluindo 82,0 g de cloreto de sódio (NaCl), 10,5 g de fosfato de sódio (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) e 3,55 g de fosfato de sódio monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) + H<sub>2</sub>O em 1,0 L de água deionizada, esta solução estoque foi diluída 10 vezes para a realização dos ensaios de liberação, que ocorreram em pH 7,2. Foram utilizados os modelos propostos pela literatura para avaliar os comportamentos de liberação.<sup>88</sup> Para as

análises os hidrogéis foram intumescidos em solução aquosa com concentração conhecida de estreptomicina, de modo que houve a possibilidade de quantificar a estreptomicina absorvida pelos hidrogéis no processo por meio da equação 2.2. A liberação foi medida pela transferência dos materiais intumescidos para recipientes com tampão fosfato, onde mediu-se a concentração do ativo no meio ao longo do tempo por UV-VIS na região de 200 nm. A FIGURA 2.6 mostra uma das curvas de calibração realizadas em solução PBS. Pode-se observar que o método utilizado é bastante preciso conforme indicado pelo valor de  $R^2$  superior a 0,99. Cabe ressaltar que para cada ensaio de liberação foi utilizada uma curva de calibração diferente e que todas as curvas realizadas apresentaram valores de  $R^2$  muito próximos.

A liberação de estreptomicina foi avaliada com e sem a aplicação de campo magnético, de modo que foi possível observar os efeitos do campo magnético para liberação desse ativo. Para esta etapa, utilizou-se um conjunto de ímãs permanentes em forma de duto, parte integrante do equipamento Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear SLK-IF-1399 (frequência de ressonância de 0,23 Tesla ou 9 MHz), Spinlock (Córdoba, Argentina) a temperatura de 25°C. O equipamento não foi utilizado para caracterização das amostras, mas sim pela alta homogeneidade do campo magnético no seu interior. A FIGURA 2.7 apresenta uma fotografia do equipamento utilizado para os ensaios de liberação com aplicação do campo magnético.

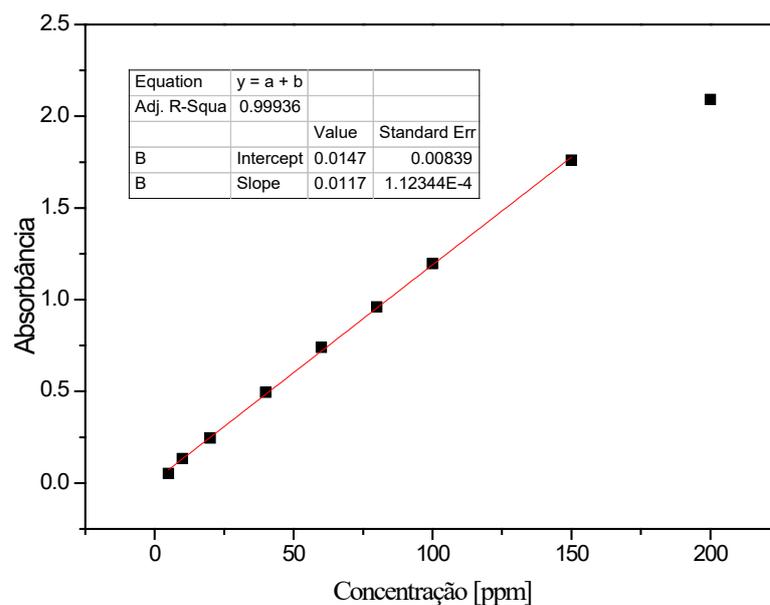


FIGURA 2.6 - Curva de calibração obtida para a estreptomicina em 200 nm.



FIGURA 2.7 - Fotografia do espectrômetro de ressonância magnética nuclear SLK-IF-1399 utilizado nos ensaios de liberação.

## 2.12. Liberação de estreptomicina em cultura de bactérias.

Em parceria com o laboratório de análises biológicas da Embrapa Instrumentação prepararam-se os meios de cultura para o crescimento da bactéria *Escherichia coli*. Para tanto, 52 g de ágar BHI, pesados em balança analítica,

foram diluídos em 1000 mL de água Milli Q. A solução resultante foi levada para a autoclave, onde permaneceu a 121 ° C por 15 minutos. O ágar, ainda líquido, foi distribuído pelas placas de Petri, onde permaneceu em repouso para a solidificação. Com as placas de Petri prontas, as bactérias foram dispersas homogeneamente, a seguir outras de hidrogéis intumescidos em água (Controle) e intumescidos em solução de estreptomicina com concentração de 10 g.L<sup>-1</sup> foram adicionadas. Posteriormente, as amostras foram transferidas para o laboratório de RMN onde se observou o efeito da inibição do crescimento das bactérias com ou sem a aplicação de campo magnético.

## Capítulo III: Resultados e Discussão

### 3.1. Grau de intumescimento (Q)

O grau de intumescimento (Q) é a medida da quantidade de água ou solução de determinado composto que o hidrogel pode absorver. Esse parâmetro pode variar de acordo com os modificantes utilizados na síntese, bem como com a quantidade de AAm e/ou reticulante utilizado,<sup>89,90</sup> e intensidade iônica da solução, ou seja, o intumescimento geralmente é inversamente proporcional à concentração de determinado ativo em solução e também é responsivo a carga do íon: quanto maior a carga do íon, menor o grau de intumescimento do hidrogel.<sup>91</sup> Hidrogéis de poliacrilamida também apresentam propriedades de intumescimento responsivas a variações de pH.<sup>92</sup>

Os valores obtidos para o grau de intumescimento no equilíbrio ( $Q_{eq}$ ) em água e solução de estreptomicina são reportados na FIGURA 3.1.

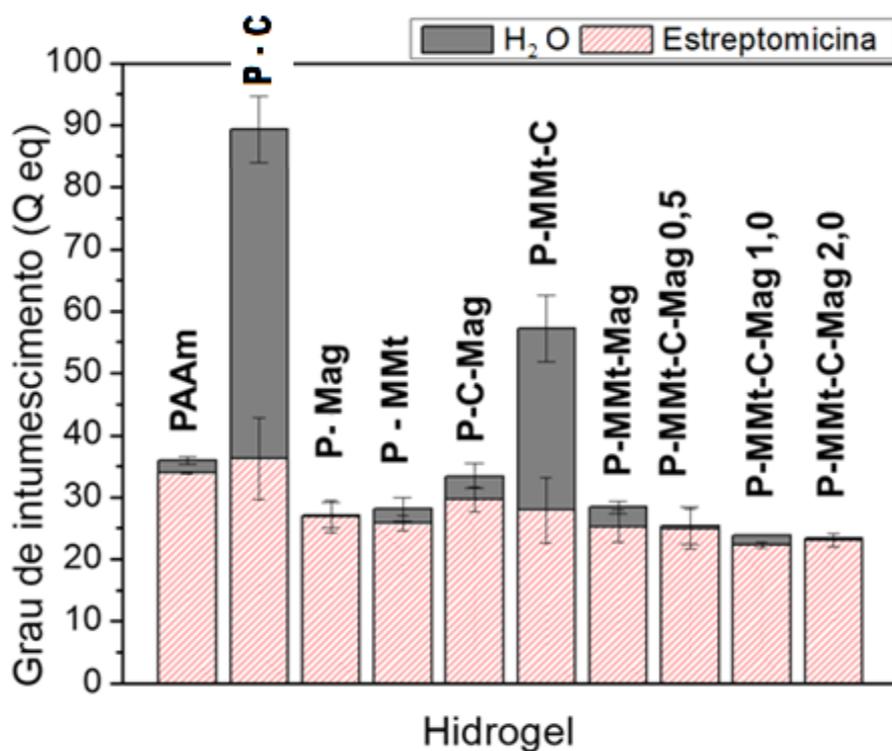


FIGURA 3.1 - Grau de intumescimento no equilíbrio para os hidrogéis sintetizados em água e solução de estreptomicina.

Para melhor observação, a TABELA 3.2 apresenta os valores numéricos obtidos para o grau de intumescimento no equilíbrio reportados na FIGURA 3.1. Analisando os modificantes separadamente, nota-se que a presença da carboximetilcelulose aumenta o grau de intumescimento de  $35,9 \pm 0,2$  para  $89,7 \pm 6,1$  comparando-se o hidrogel de poliacríamida puro (PAAm) com o modificado apenas com o polissacarídeo (P – C) em água. É observado também fator semelhante comparando o hidrogel (P – MMT) e (P – MMT – C), onde a presença da CMC aumentou o intumescimento de  $28,9 \pm 1,9$  para  $57,2 \pm 3,8$ . Esse aumento de intumescimento está relacionado aos grupamentos hidroxilas e carboxílicos provenientes da CMC que interagem entre si em um comportamento de repulsão, facilitando a abertura dos poros do hidrogel e conseqüentemente aumentando sua hidrofiliçidade. No entanto, quando é incorporado as nanopartículas magnéticas funcionalizadas, esse efeito de aumento de intumescimento não é notado, por exemplo, o hidrogel (P – Mag) e o (P – C – Mag) apresentam valores de intumescimento de  $27,1 \pm 2,6$  e  $33,3 \pm 2,4$ , respectivamente, estando praticamente na mesma faixa de erro, o que indica que a ligação das nanopartículas magnéticas/hidrogel se dá diferentemente da ligação argilomineral/hidrogel. Mesmo em baixas quantidades (0,5 - 2,0 % m/m) as nanopartículas funcionalizadas tornam as cadeias do material mais rígidas a ponto de que o efeito de repulsão dos grupamentos hidroxilas e carboxílicos da CMC seja praticamente neutralizado. Tal resultado é um indício de que há interação química das nanopartículas funcionalizadas com a cadeia polimérica do hidrogel. Corroborando com esse indício estão os hidrogéis (P - MMT - Mag) que ao adicionar a CMC praticamente não alteram os valores de intumescimento, como nota-se das 4 últimas linhas da TABELA 3.1. Os valores de Q são dados em g/g, ou seja, é a razão de gramas de água por gramas de hidrogel seco.

TABELA 3.1 - Valores de  $Q_{eq}$  obtidos para as amostras imersas em água e em solução de estreptomicina (est).

<b>Hidrogel</b>	<b><math>Q_{eq}</math> (água)</b>	<b><math>Q_{eq}</math> (est)</b>
<b>PAAm</b>	$35,9 \pm 0,2$	$33,9 \pm 0,6$
<b>P-C</b>	$89,7 \pm 6,1$	$36,2 \pm 0,1$
<b>P-Mag</b>	$27,1 \pm 2,6$	$26,9 \pm 2,1$
<b>P-MMt</b>	$28,9 \pm 1,9$	$25,8 \pm 1,2$
<b>P-C-Mag</b>	$33,3 \pm 2,4$	$27,3 \pm 2,9$
<b>P-MMt-C</b>	$57,2 \pm 3,8$	$27,9 \pm 2,6$
<b>P-MMt-Mag</b>	$28,4 \pm 2,5$	$25,3 \pm 1,0$
<b>P-MMt-C-Mag 0,5</b>	$27,3 \pm 2,6$	$22,3 \pm 0,1$
<b>P-MMt-C-Mag 1,0</b>	$25,6 \pm 2,2$	$24,9 \pm 0,6$
<b>P-MMt-C-Mag 2,0</b>	$25,9 \pm 1,2$	$23,1 \pm 0,1$

Quanto ao argilomineral MMt, nota-se que sua presença impacta diretamente os valores de intumescimento. Há um decréscimo nos valores de  $Q_{eq}$  de  $35,9 \pm 0,2$  para  $28,9 \pm 1,9$  para os hidrogéis (PAAm) e (P – MMt), respectivamente. Argilominerais em hidrogéis atuam como barreira, tanto para processos de liberação de ativos quanto para o intumescimento, ou seja, o argilomineral dificulta a expansão das cadeias<sup>93</sup>, mas não se liga quimicamente nelas, ficando esfoliados ou intercalados na estrutura do hidrogel como indicado na FIGURA 3.2.

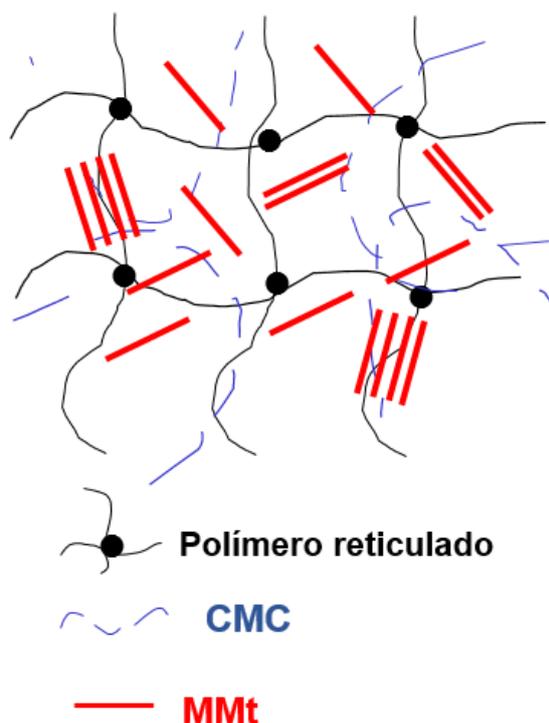


FIGURA 3.2 - Esquema representativo para hidrogel modificado com carboximetilcelulose e montmorilonita.

O fato de que a MMt não se liga na cadeia do material permite que a inserção de CMC no hidrogel (P – MMt) aumente o valor do grau de intumescimento como mencionado anteriormente, fato que não é observado nos hidrogéis modificados com as nanopartículas.

A adição das nanopartículas no hidrogel puro também afeta os valores de  $Q_{eq}$  que decresce de  $35,9 \pm 0,2$  para  $27,1 \pm 2,6$  comparando-se o hidrogel (PAAm) e o (P – Mag). Quanto aos demais hidrogéis contendo nanopartículas magnéticas juntamente com outros modificantes não se notou variações significativas de  $Q_{eq}$ , indicando que a presença das nanopartículas minimiza o efeito dos modificantes. Quando se observa o comportamento de  $Q_{eq}$  para os hidrogéis em solução de estreptomicina, percebe-se um decréscimo mais expressivo para o hidrogel (P – C) que diminui de  $89,7 \pm 6,1$  em água para  $36,2 \pm 0,1$  em solução de estreptomicina, e para o hidrogel (P – MMt – C), que sofre

alteração de  $57,2 \pm 3,8$  para  $27,9 \pm 2,6$ . Para o hidrogel (PAAm) também se nota uma ligeira queda nesse parâmetro de  $35,9 \pm 0,2$  para  $33,9 \pm 0,6$ .

Quando se troca o meio de intumescimento do hidrogel para uma solução, seja ela de um fertilizante, fármaco ou sal, o tamanho das moléculas a serem incorporadas pelos hidrogéis aumenta e isso impacta diretamente nos valores de intumescimento. No entanto, não foi observado um decréscimo significativo no intumescimento das amostras contendo 1,0 e 2,0 % de nanopartículas, indicando que possivelmente as nanopartículas ligadas na cadeia do material interagem com as moléculas do fármaco, compensando o efeito do aumento das moléculas de intumescimento.

### **3.2. Ciclos de Intumescimento em água.**

Um parâmetro importante para a aplicação de um hidrogel é determinar quantas vezes ele pode ser utilizado, e para tanto foram realizadas medidas de ciclos de intumescimento. Um ciclo de intumescimento completo é um processo onde parte-se do material seco que é imerso em água ou determinada solução de ativo e o intumescimento é monitorado até o equilíbrio, que nesse trabalho foi adotado como parâmetro 96 horas imerso em água deionizada. A partir desse momento os hidrogéis foram retirados da solução de intumescimento e a massa final aferida em balança analítica. Após aferidos, os materiais foram secos novamente e o processo foi repedido por 7 ciclos, onde cada ciclo corresponde a um processo completo de intumescimento.

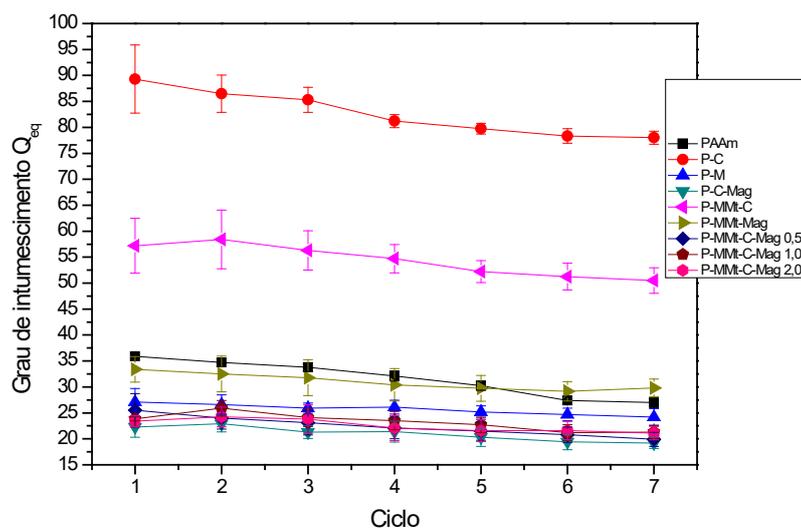


FIGURA 3.3 - Ciclos de intumescimento em água para os hidrogéis sintetizados.

A FIGURA 3.3 representa a tendência de perda de propriedades dos hidrogéis conforme seu uso. Quando o hidrogel passa por um processo de intumescimento ocorrem mudanças nas cadeias poliméricas e raramente um processo de intumescimento será idêntico ao anterior. Entre um ciclo e outro os hidrogéis tendem a perder um percentual baixo de sua propriedade hidrofílica. Pode-se observar na FIGURA 3.3 que praticamente todos os hidrogéis tem o mesmo comportamento de diminuir sua capacidade de intumescimento após cada ciclo, o que ocorre devido a reorganização das cadeias poliméricas após cada ciclo de intumescimento. Cabe ressaltar que os resultados são satisfatórios, uma vez que todos os materiais perderam poucas de suas propriedades iniciais de intumescimento mesmo considerando até o sétimo ciclo de intumescimento.

### 3.3. Cinética de intumescimento dos hidrogéis com e sem a aplicação de campo magnético

A FIGURA 3.4 mostra as curvas de cinética de intumescimento com e sem a aplicação de campo magnético. As curvas de intumescimento apresentam dois comportamentos distintos e comuns para a maioria dos hidrogéis: inicialmente o processo de intumescimento ocorre rapidamente e de maneira praticamente linear, porém em um determinado estágio, a velocidade de intumescimento diminui bruscamente e fica cada vez menor até atingir o equilíbrio. Para as amostras testadas, os hidrogéis atingem o equilíbrio de intumescimento após aproximadamente 24 horas imersos em água.

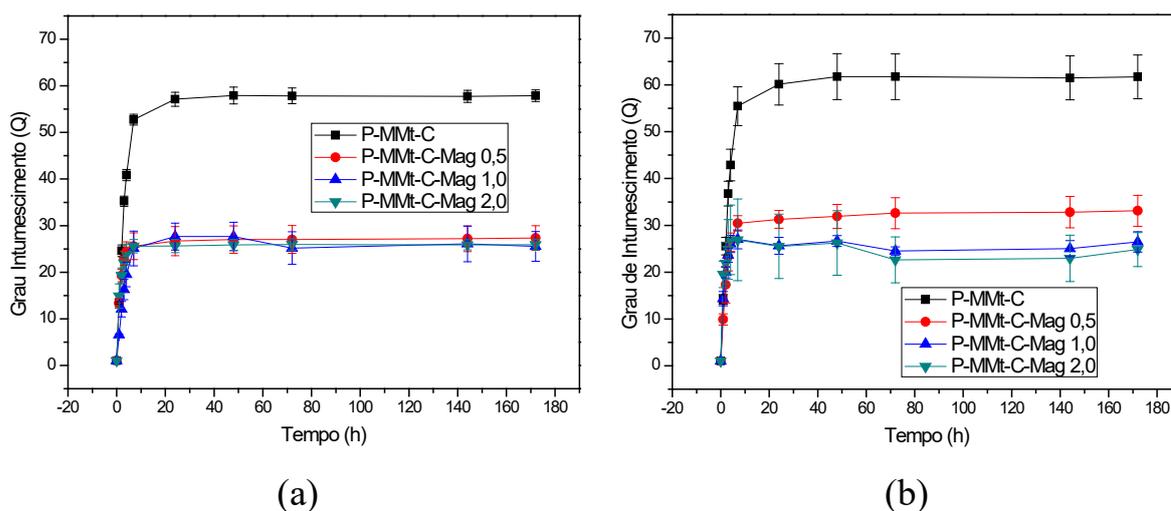


FIGURA 3.4 - Cinética de intumescimento dos hidrogéis selecionados em água (a) sem a aplicação de campo magnético e (b) com a aplicação de campo magnético.

A partir da variação da massa do hidrogel em função do tempo, foram obtidas curvas de cinética de intumescimento por meio de gráficos de  $\ln M_t/M_{eq}$  vs  $\ln t$ , como os reportados na FIGURA 3.5. Extraíu-se o expoente difusional  $n$  e a constante cinética de difusão  $k$  que são reportados na TABELA 3.2.

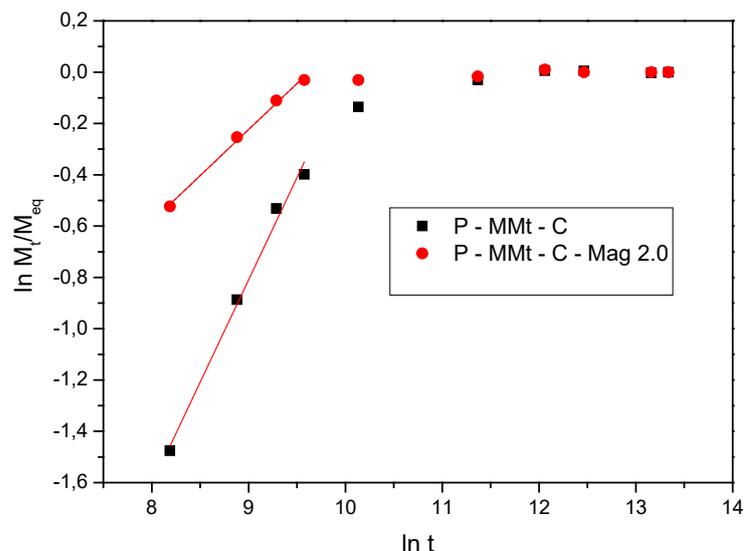


FIGURA 3.5 - Exemplo de curvas utilizadas para cálculo dos parâmetros cinéticos, onde  $M_t$  é a massa do hidrogel intumescido no tempo  $t$  e  $M_{eq}$  é a massa do hidrogel intumescido no equilíbrio.

TABELA 2.2 - Parâmetros  $n$  e  $k$  para o intumescimento dos hidrogéis em água com e sem a aplicação de campo magnético.

Hidrogel	$n$	$n^*$	$k (x10^{-3})$	$k^* (x10^{-3})$
P-MMt-C	$0,65 \pm 0,06$	$0,64 \pm 0,02$	$1,87 \pm 0,004$	$1,85 \pm 0,001$
P-MMt-C-Mag 0,5	$0,59 \pm 0,05$	$0,49 \pm 0,01$	$3,20 \pm 0,13$	$6,77 \pm 0,09$
P-MMt-C-Mag 1,0	$0,49 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,03$	$4,76 \pm 0,50$	$14,14 \pm 0,25$
P-MMt-C-Mag 2,0	$0,37 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,08$	$27,40 \pm 0,05$	$254,51 \pm 10,7$

\*Com aplicação de campo magnético

Para hidrogéis no formato cilíndrico, os valores de  $n \approx 0,50$  correspondem à difusão Fickiana, ou seja, as moléculas de água são transportadas nas cadeias dos hidrogéis por simples processos de difusão. Valores de  $n \approx 1,0$  indicam que a difusão do solvente para o interior do gel ocorre exclusivamente por relaxamento das cadeias que compõem a rede polimérica. Valores de  $n$  entre

0,5 e 1,0 indicam que o processo de difusão de água para dentro do hidrogel depende tanto de processos difusionais como de relaxação e mobilidade das cadeias poliméricas.<sup>88</sup> O parâmetro  $n$  para hidrogéis tem relação direta com a mobilidade das cadeias e valores de intumescimento: quanto maior o grau de intumescimento, maior a mobilidade das cadeias e consequentemente maiores os valores de  $n$ . Portanto, valores de  $n$  inferiores a 0,5 significam que as cadeias do hidrogel se tornam mais rígidas, e quanto mais próximo de zero, mais rígidas são as cadeias poliméricas. Os resultados de  $n$  obtidos indicam que a presença das nanopartículas estão tornando as cadeias poliméricas mais rígidas, fator que impacta os valores de intumescimento, conforme discutido na seção 3.2, e também reduz os valores de  $n$  de  $0,65 \pm 0,06$  no hidrogel sem as Mag para  $0,37 \pm 0,01$  no material com 2,0 % de Mag. Porém, a diferença mais significativa se dá com a aplicação do campo magnético onde nota-se que todas as amostras que contém Mag tiveram o valor de  $n$  reduzido com a aplicação do campo. Tal redução é mais pronunciada na concentração 2,0% de Mag onde o parâmetro variou de  $0,37 \pm 0,01$  para  $0,15 \pm 0,08$  indicando que a aplicação de campo magnético está tensionando as cadeias do polímero.

Os valores de  $k$  são proporcionais à velocidade com que o hidrogel absorve água. A adição de MMT provoca um aumento na velocidade de absorção de água<sup>94</sup>, porém não houve uma tendência definida com a adição de CMC neste parâmetro. No entanto, analisando os resultados obtidos, nota-se que a concentração de Mag no polímero aumenta a velocidade de absorção de água e quando se aplica o campo magnético o aumento da constante  $k$  é ainda mais expressivo nas primeiras horas de intumescimento, e se mostra responsivo à concentração de Mag. Observa-se um aumento de aproximadamente 2 vezes para a concentração de 0,5 %, de aproximadamente 3 vezes para a concentração de 1,0 % e de aproximadamente 9,0 vezes para a concentração de 2,0 % quando se aplica o campo magnético.

### 3.4. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier – (FTIR)

Pode-se notar nos espectros do hidrogel PAAm bandas características da poliacrilamida nas regiões de 3300 – 3450  $\text{cm}^{-1}$  provenientes de estruturas vibracionais de  $\text{NH}_2$ , nas regiões de 1667 e 1466  $\text{cm}^{-1}$  característica da ligação  $\text{C}=\text{O}$  do hidrogel e na região de 1153  $\text{cm}^{-1}$  característica da vibração  $\text{C}-\text{O}$ . Quando se introduz a CMC na estrutura do material, há um alongamento das bandas nas regiões 2990 – 3600  $\text{cm}^{-1}$  características de grupamentos hidroxilas e principalmente na região 900 – 1230  $\text{cm}^{-1}$  provenientes das ligações  $\beta$ -glicosídicas entre unidades monossacarídicas da CMC. A FIGURA 3.6 mostra os espectros de FTIR para os sem as nanopartículas magnéticas.

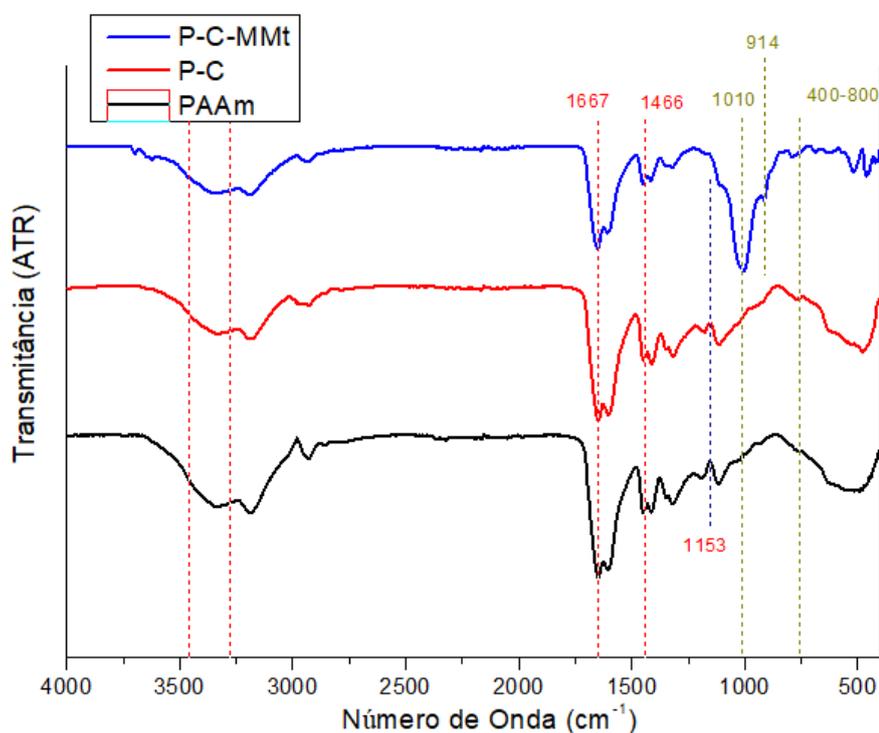


FIGURA 3.6 - Espectro FTIR para o hidrogel puro (PAAm), modificado com CMC (P – C) e modificado com CMC e MMt (P – C – MMt).

A MMt pode ser observada em  $1010 - 1110 \text{ cm}^{-1}$  com deformações axiais Si-O da rede,  $914 - 930 \text{ cm}^{-1}$  características da vibração angular Al-OH-Al e na região  $400 - 800 \text{ cm}^{-1}$  com deformações angulares da ligação Si-O. A FIGURA 3.7 mostra os espectros de FTIR dos materiais contendo Mag.

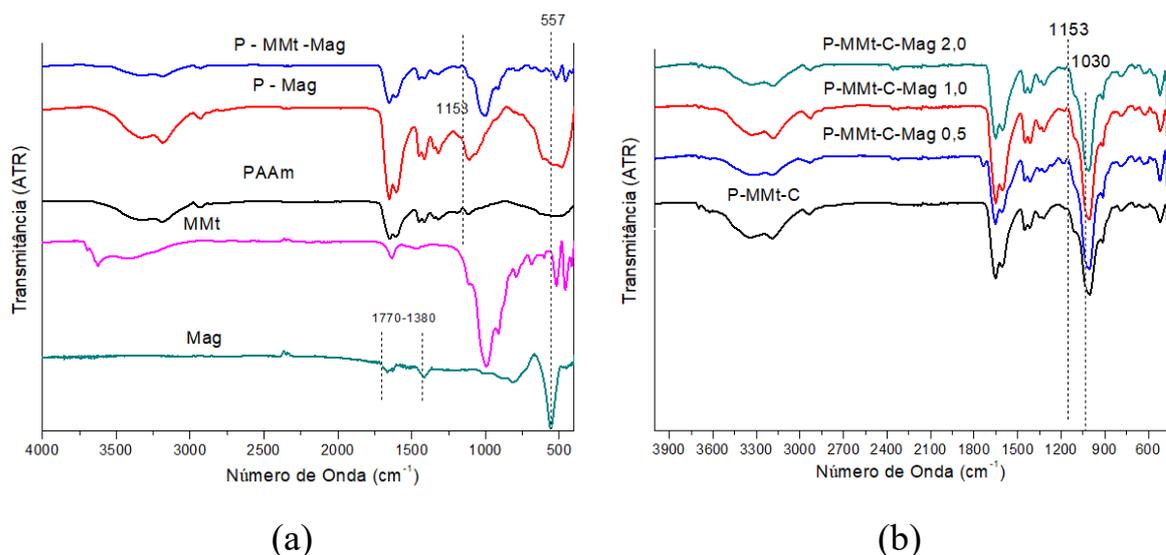


FIGURA 3.7 - Espectros FTIR (a) dos modificantes isolados Mag, MMt e hidrogel (PAAm), (P – Mag) e (P – MMt – Mag) e (b) Hidrogel (P – MMt – C) e modificados com 0,5 – 2,0 % de Mag.

O espectro das nanopartículas magnéticas funcionalizadas mostrou uma banda característica da ligação Fe – O na região de  $557 \text{ cm}^{-1}$  proveniente da magnetita e uma banda característica de estiramentos C=C do anel aromático proveniente do polibenzileno na região  $1770 - 1380 \text{ cm}^{-1}$ , indicando que as nanopartículas estão recobertas pelo polímero. Quando se incorpora as nanopartículas no polímero há mudanças significativas na região próxima a ligação Fe – O, indicando a incorporação das nanopartículas e principalmente um deslocamento da banda C – O na região de  $1153 \text{ cm}^{-1}$  onde possivelmente há um ponto de ligação das nanopartículas magnéticas com a estrutura do hidrogel.

A incorporação de estreptomicina também foi avaliada por meio do FTIR e os resultados são mostrados na FIGURA 3.8. Os grupamentos químicos característicos da estreptomicina são muito semelhantes ao da poliacrilamida, sendo assim, é observado nos espectros uma sobreposição das bandas. Entretanto, é possível observar a incorporação do ativo nos hidrogéis ao comparar o material intumescido em água com o intumescido em solução de estreptomicina. Observou-se também pontos de interação entre a estreptomicina e os hidrogéis nas regiões  $1513\text{ cm}^{-1}$ , características de estruturas vibracionais de  $\text{NH}_2$  que se deslocam para  $1486\text{ cm}^{-1}$  e também na região  $1153\text{ cm}^{-1}$  característica apenas do hidrogel que também é deslocado na presença do fármaco.

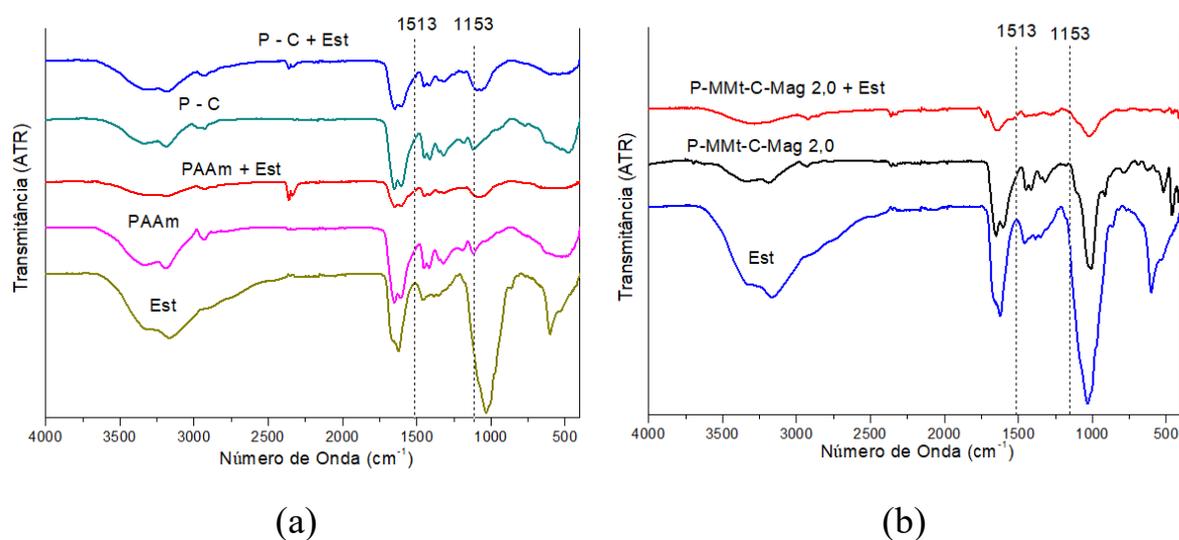


FIGURA 3.8 - Espectros FTIR (a) estreptomicina pura e hidrogéis sem a presença de Mag com e sem estreptomicina (b) estreptomicina pura e hidrogel (P – MMt – C - Mag) intumescidos em água e em solução de estreptomicina.

### 3.5. Difração de Raios X – DRX

Na FIGURA 3.9 são mostrados os difratogramas de raios-X da montmorilonita, hidrogel PAAm e CMC e seus nanocompósitos preparados com diferentes teores de argila para os hidrogéis com e sem o tratamento de hidrólise. As distâncias interlamelares ou distâncias interplanares basais ( $d_{001}$ ) das amostras foram calculadas a partir dos respectivos picos de difrações e empregando a lei de Bragg. (Equação 3.1).

$$n\lambda = 2d_{001}\text{sen}\theta \quad \text{Equação 3.1}$$

onde  $\theta$  = ângulo de incidência;  $n$  = ordem de reflexão e  $\lambda$  = comprimento de onda da radiação incidente ( $\lambda = 0,154$  nm). A FIGURA 3.10 mostra os difratogramas normalizados para os hidrogéis sintetizados e com os padrões característicos do  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  indicado.

O difratograma de raios-X da MMt pura, como esperado, apresenta uma reflexão em  $2\theta = 6,56^\circ$  referente ao plano basal e correspondendo a uma distância interlamelar  $d_{001} = 1,35$  nm, característica da fase montmorilonita. As reflexões em  $25$  e  $27^\circ$ , correspondem a possíveis contaminações com quartzo, comumente identificadas em materiais de origem mineral. Nos materiais nanocompósitos não foram observados picos característicos da argila na região entre  $2\theta = 3-9^\circ$ , indicando boa nanodispersão (intercalação) e/ou esfoliação das lamelas da MMt pela estrutura dos nanocompósitos poliméricos para todas as condições. Pode-se observar ainda para o hidrogel puro (PAAm) picos de difração em  $29, 31, 38$  e  $44^\circ$ , correspondendo as distâncias interplanares de  $3,18, 2,88, 2,63$  e  $2,09$ . Por outro lado, observou-se que o processo de hidrólise facilitou a nanodispersão (intercalação) e esfoliação das plaquetas de argila na matriz de hidrogel, permitindo mesmo nesta condição o desaparecimento do plano basal.

Notou-se no difratograma da Mag, picos de difração característicos do padrão  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (19-0629) nas regiões  $2\theta = 30,2; 35,9; 37,9; 43,3; 53,4; \text{ e } 57,2^\circ$ .

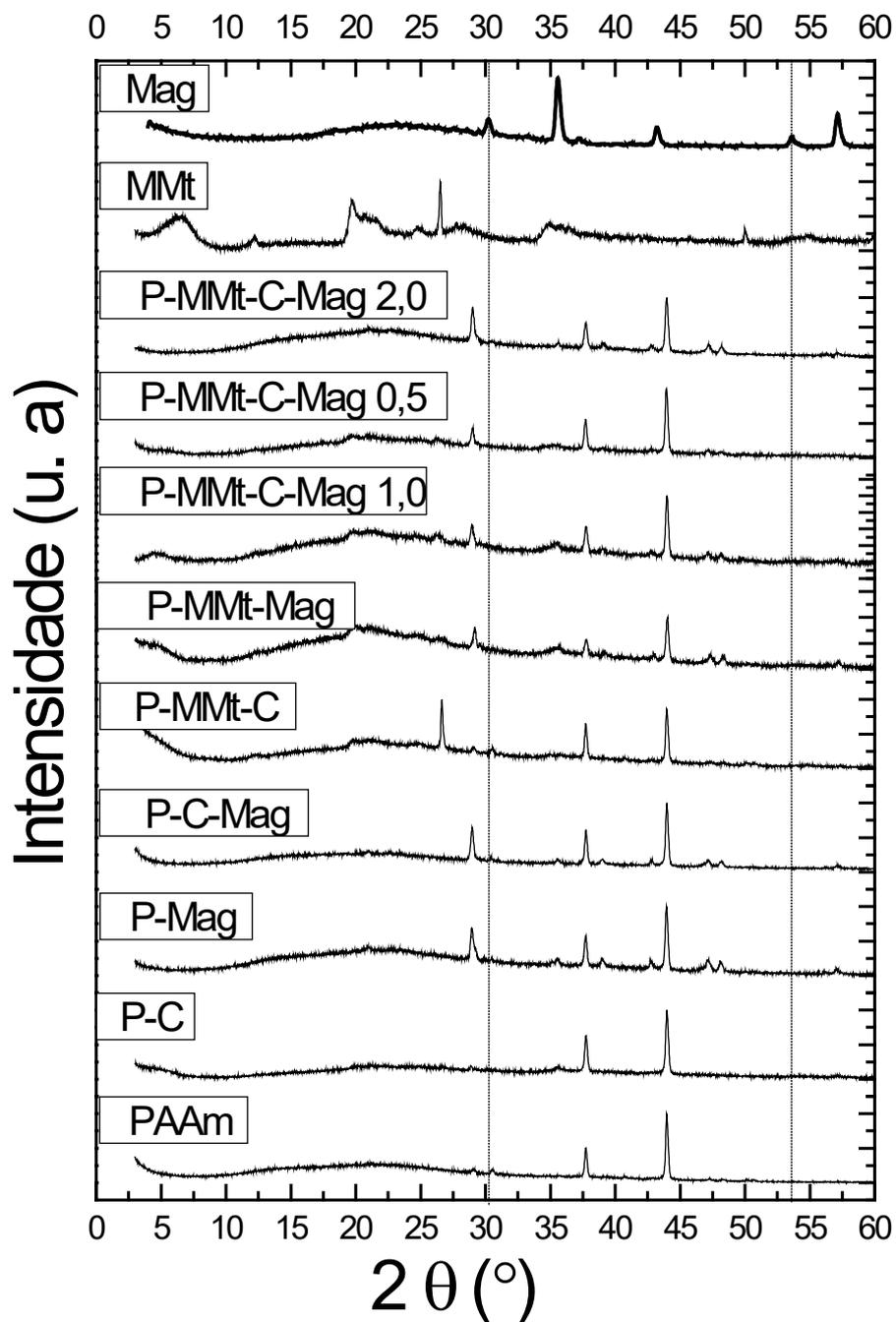


FIGURA 3. 9- Difratogramas para os hidrogéis sintetizados e Mag e MMt puros.

A presença de magnetita nos hidrogéis ocasionou o aparecimento das reflexões nas regiões de  $2\theta = 29,0, 47,2$  e  $48,2$ , que não são características do hidrogel e nem das nanopartículas magnéticas, um indicativo de que as nanopartículas modificam a estrutura cristalina das cadeias provavelmente por se ligarem quimicamente às cadeias do hidrogel.

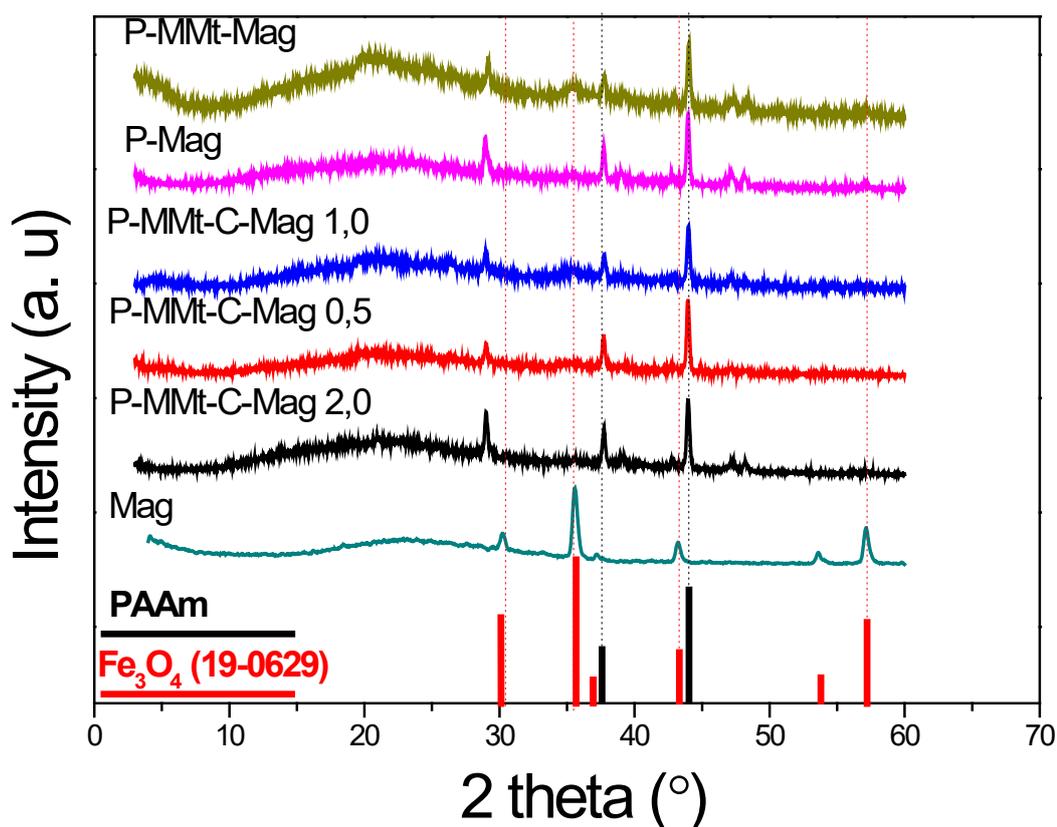


FIGURA 3.10- Difratoogramas das nanopartículas magnéticas e dos hidrogéis modificados com as nanopartículas.

### 3.6. Microscopia eletrônica de varredura – (MEV)

A investigação morfológica dos hidrogéis foi realizada por medidas de microscopia eletrônica de varredura. Na FIGURA 3.11 são apresentadas micrografias para todos os hidrogéis sintetizados. Uma análise qualitativa revela

que os materiais sintetizados são extremamente porosos e apresentam uma distribuição estreita do tamanho dos poros. Nota-se que a inserção da CMC faz com que os tamanhos dos poros aumentem de maneira geral. Um efeito antagônico é dado pela adição das nanopartículas magnéticas que reduzem significativamente o tamanho médio dos poros. A análise de MEV pode ser também um indicativo de que as nanopartículas magnéticas se ligam à estrutura do material, pois, como observado na figura, todos os compósitos que contém as nanopartículas magnéticas apresentaram uma morfologia mais ordenada.

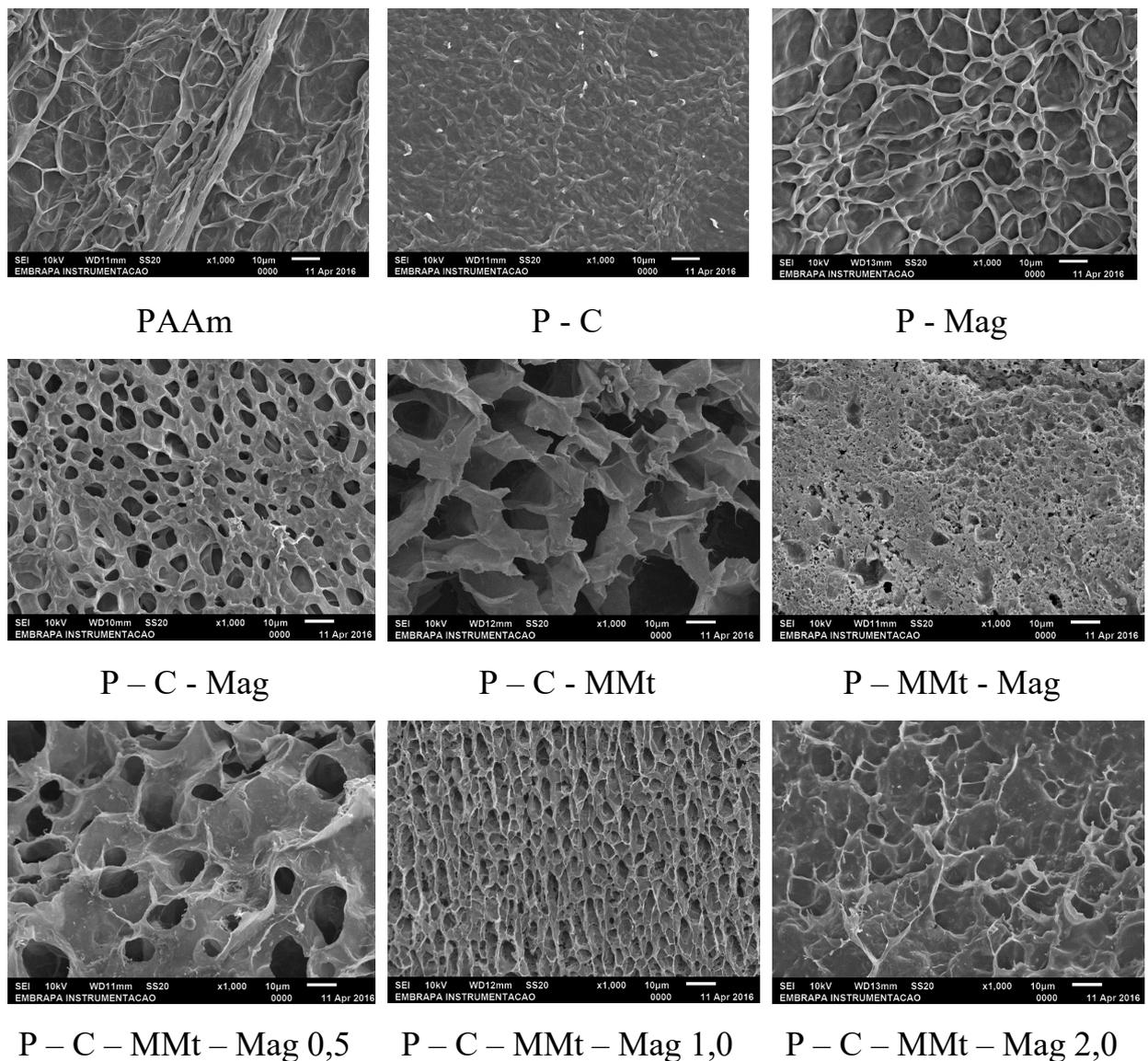


FIGURA 3.11- Micrografias MEV para os hidrogéis sintetizados.

### 3.7. - Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia – (EDX)

O espectro de EDX para o hidrogel contendo 2,0% de Mag é mostrado na FIGURA 3.12. Pelo espectro de EDX é possível observar os elementos químicos presentes no hidrogel P – C – MMt – Mag 2,0, onde se nota que a base de poliacrilamida foi identificada pelos elementos químicos C, N e O e os principais elementos do argilomineral pelos picos relativos aos elementos Mg, Al e Si. Porém, como o espectro de EDX não traz informações sobre a dispersão desses materiais na estrutura do hidrogel, foi elaborado o mapa de EDX.

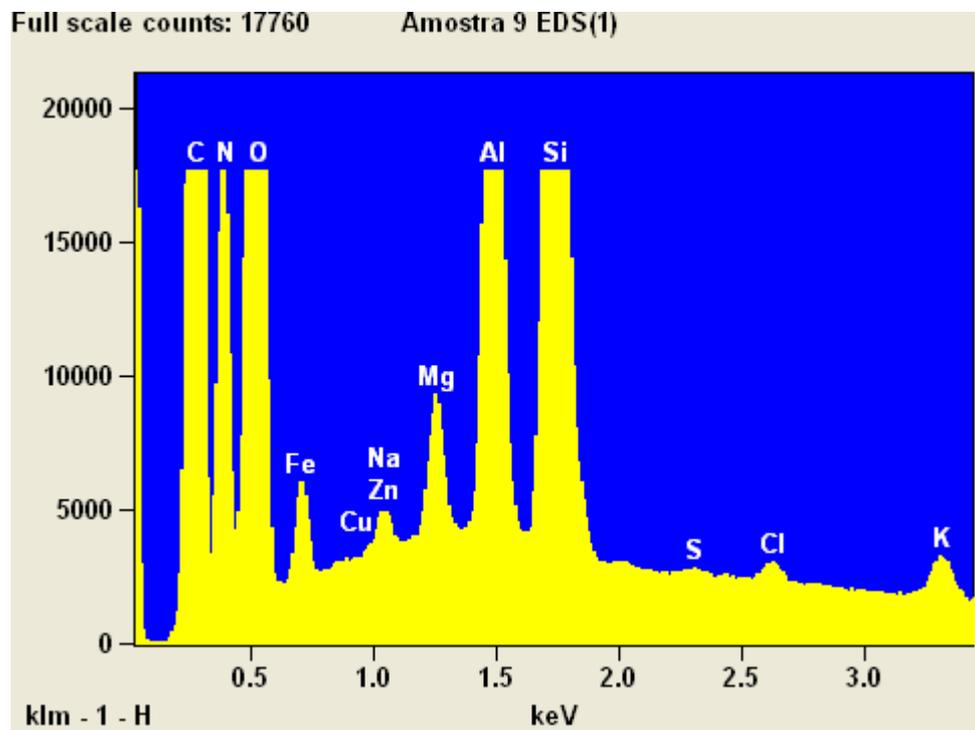


FIGURA 3.12- Espectro EDX para o hidrogel P – C – MMt – Mag 2,0.

O mapa de EDX de alguns componentes dos hidrogéis é mostrado na FIGURA 3.15. A análise mostrou que os principais modificantes dos nanocompósitos, o argilomineral e as nanopartículas magnéticas, se encontram dispersos por toda a estrutura do polímero. A dispersão da MMt pode ser observada pela homogeneidade dos elementos Mg, Al e Si, os quais são os

principais constituintes do argilomineral utilizado na síntese do hidrogel. Já para as nanopartículas magnéticas, mesmo em uma quantidade pequena (2 % m/m), foi possível identificá-las no EDX pelo mapa do elemento Fe, que também apresentou uma boa homogeneidade por toda estrutura do material, indicando que a síntese foi bem-sucedida e foi possível a obtenção de um material homogêneo.

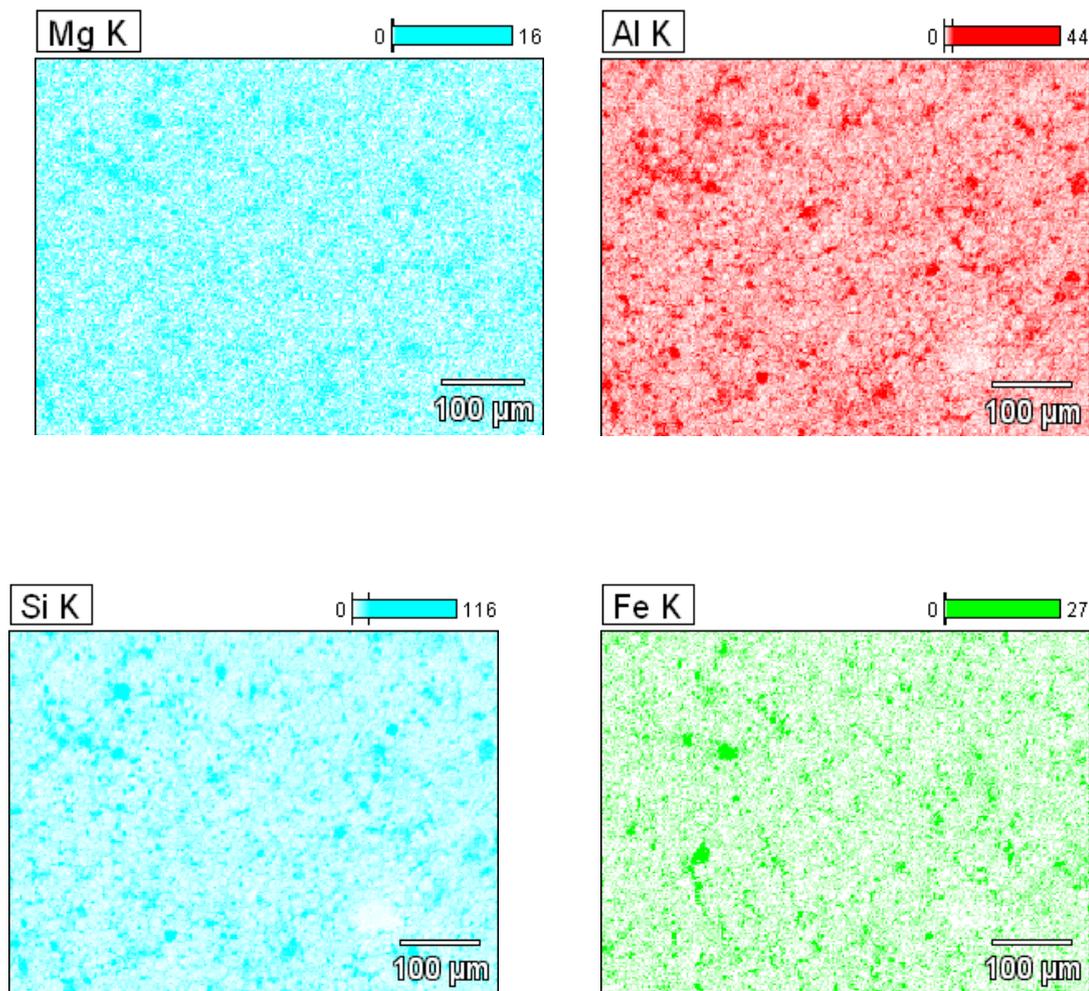


FIGURA 3.13- Mapa de EDS para a amostra contendo 2,0% de magnetita (P – C – MMt – Mag 2,0).

### 3.8. Ressonância magnética no domínio do tempo (RMN-DT)

A FIGURA 3.14 mostra o estudo de interação da água com os hidrogéis por medidas de tempo de relaxação  $T_2$ .

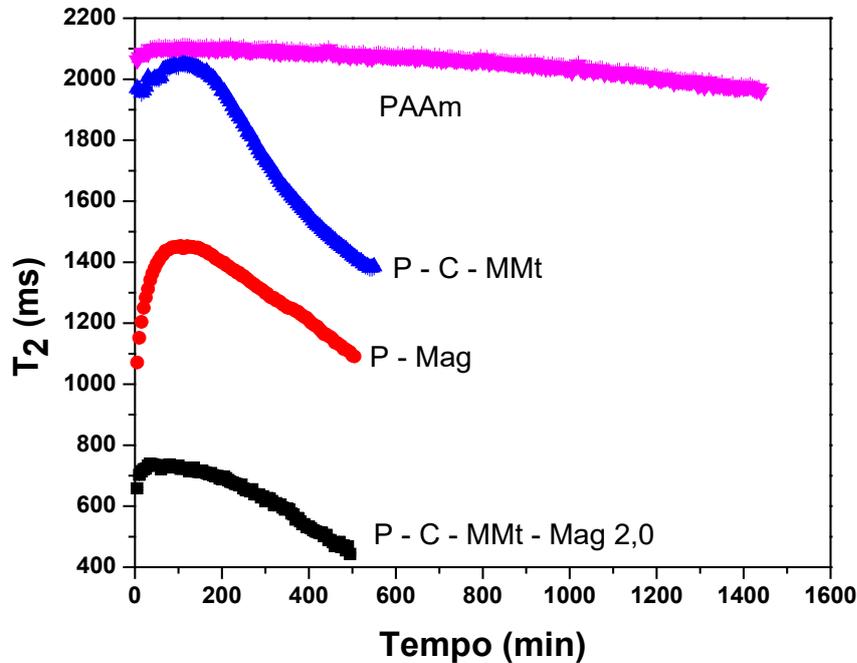


FIGURA 3.14- Tempos de relaxação ( $T_2$ ) para diferentes amostras de hidrogel.

O experimento de CPMG fornece o tempo de relaxação transversal da amostra, sendo referente ao  $^1\text{H}$  da molécula de  $\text{H}_2\text{O}$ . Quanto mais livre estiver o  $^1\text{H}$ , maior será o valor  $T_2$ . Dentre os fatores que reduzem o tempo de relaxação está a presença de íons paramagnéticos característicos das nanopartículas utilizadas. Analisando o comportamento da amostra com 2,0 % de Mag é possível observar que esta apresenta maior interação com o  $^1\text{H}$ , pois apresentou o  $T_2 = 658,5 \pm 4,4$  ms. À medida que vai ocorrendo a interação das moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$  com os hidrogéis os valores de  $T_2$  diminuem. O hidrogel PAAm apresentou um processo de interação mais lento, visto que o tempo de relaxação quase não variou durante o experimento, indicando, nesse caso, que a água está mais livre que nos demais materiais. Outro fator relevante é que, devido ao campo magnético 0,5 T

gerado no equipamento, a água tem menor mobilidade no hidrogel P- Mag modificado com apenas 1,0% de Mag, do que para o hidrogel modificado com 25,0 % de MMt e 6,0 % de CMC, fator que pode indicar ligações das nanopartículas magnéticas na estrutura do polímero.

### 3.9. Magnetômetro de amostra vibrante (VSM)

Como apresentado nessa tese, os hidrogéis contendo as nanopartículas magnéticas apresentaram diferenças significativas nos parâmetros de intumescimento e liberação de estreptomicina quando é aplicado campo magnético ao material. Para avaliar experimentalmente e observar o efeito da variação do campo magnético na magnetização dos hidrogéis foram realizadas análises de VSM, cujo dados são reportadas na FIGURA 3.30.

Como esperado, o hidrogel sem as nanopartículas magnéticas não apresentou nenhuma resposta à variação de campo magnético. Como pode ser observado na FIGURA 3.30, todos os hidrogéis contendo as nanopartículas magnéticas apresentaram comportamento magnético típico, que reforça as mudanças nos perfis de liberação com a aplicação de campo magnético e são de extrema importância para o desenvolvimento de materiais magneto-responsivos.<sup>95</sup> Os valores de  $M_r$  e  $M_s$  que estão apresentados nos respectivos gráficos de VSM mostram que a concentração de Mag influencia diretamente nesses valores.

A TABELA 3.3 mostra a relação dos valores de  $M_r$  e  $M_s$  quanto à concentração de Mag no hidrogel. Não há variações significativas dos parâmetros  $M_r$  e  $M_s$  na presença de estreptomicina. Em relação a variação na concentração das nanopartículas magnéticas nota-se um aumento considerável em ambos os valores.

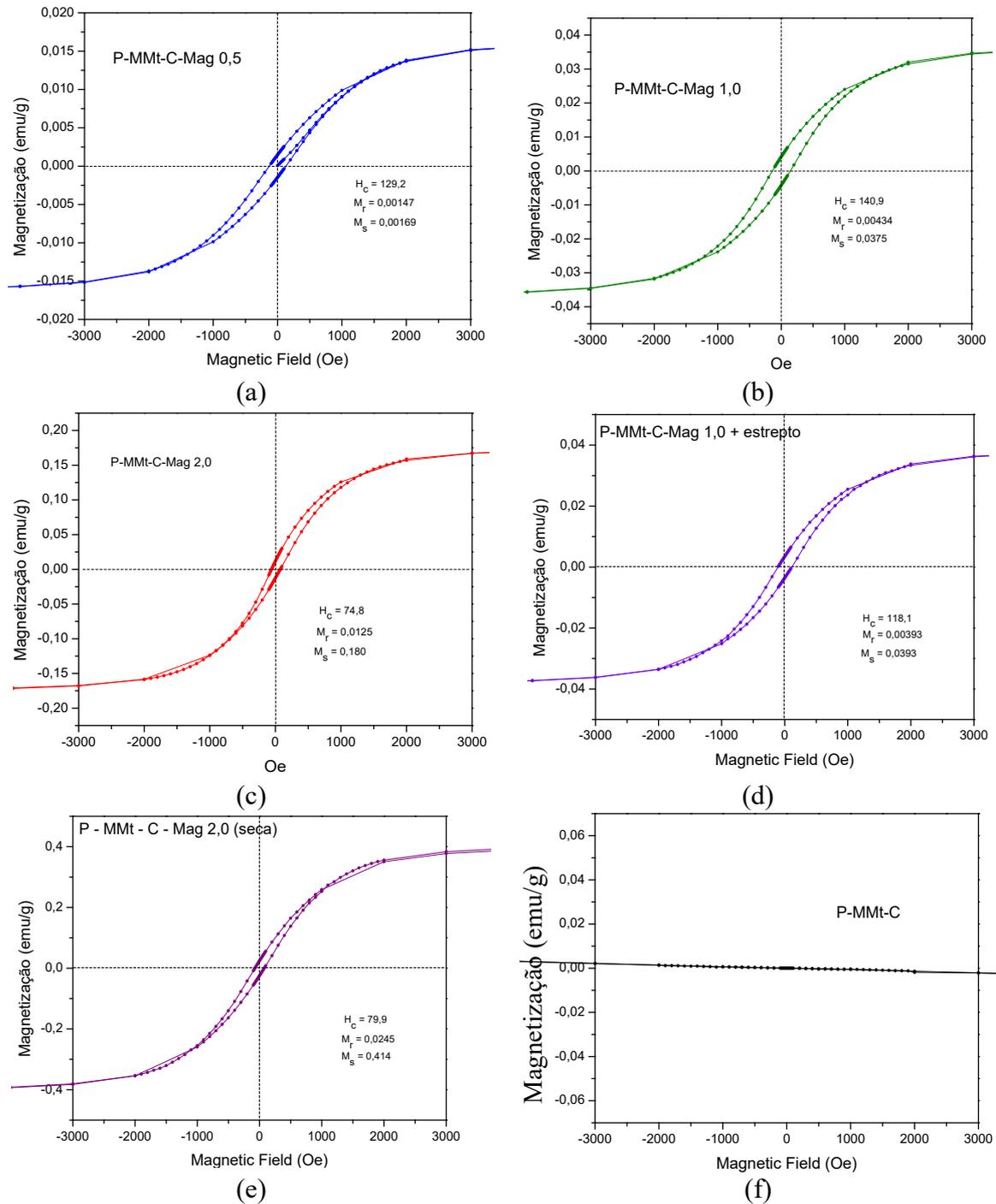


FIGURA 3.15- Gráficos de VSM para as amostras de hidrogel selecionadas.

Os valores de  $M_r$  aumentam 2,95 vezes quando se dobra a concentração de Mag no hidrogel e aumentam 8,50 vezes quando se quadruplica a concentração comparando-se os materiais intumescidos em água. Já quando se

compara o hidrogel seco em relação ao intumescido nota-se um aumento de  $M_r$  em torno de 2,3 vezes e  $M_s$  em torno de 2 vezes, que se deve ao fato de que no caso do intumescimento a água acaba interferindo significativamente na redução da resposta magnética do material. Os valores de  $M_s$  são ainda mais impactados, os hidrogéis com 1,0 e 2,0% de Mag apresentaram valores 22,19 e 106,51 vezes maiores do que o hidrogel contendo 0,5% de Mag, respectivamente.

TABELA 3.3 - Valores de  $M_r$  e  $M_s$  calculados a partir das análises de VSM.

Hidrogel	$M_r$	$M_s$	Aumento $M_r$ (vezes)	Aumento $M_s$ (vezes)
P – C – MMt – Mag 0,5	0,00147	0,00169	Referência	Referência
P – C – MMt – Mag 1,0	0,00434	0,0375	2,95	22,19
P – C – MMt – Mag 1,0 (est)	0,00393	0,0393	2,67	23,25
P – C – MMt – Mag 2,0	0,0125	0,180	8,50	106,51
P – C – MMt – Mag 2,0 (seco)	0,0245	0,414	16,67	244,97

As análises de VSM corroboram com os resultados obtidos nos experimentos em que se comparou as diferenças de aplicação ou não de campo magnético nos hidrogéis.

### 3.10. Carregamento de estreptomicina pelos hidrogéis

Os valores de sorção obtidos pelos hidrogéis sintetizados estão reportados na TABELA 3.4. O hidrogel de poliacrilamida puro PAAM não apresentou maior afinidade pelo ativo, visto que  $C_0 = C_f$ . Assim, a razão da quantidade de ativo sorvida pelo valor do intumescimento resulta em um valor de

0,115, ou seja, quanto maior o valor dessa razão, mais afinidade apresenta o hidrogel pelo ativo. Nota-se, de maneira geral, que qualquer modificante introduzido na síntese dos hidrogéis de PAAm faz com que a afinidade pelo ativo aumente, podendo-se destacar os hidrogéis com todos os modificantes e maiores concentrações de magnetita (P-MMt-C-Mag 1,0 e P-MMt-C-Mag 2,0). A CMC provoca um ligeiro aumento no intumescimento, bem como aumento na capacidade de sorção do fármaco. O argilomineral aumenta a interação com o fármaco pois na solução de intumescimento ele diminui a concentração da solução, porém, a presença do argilomineral reduz consideravelmente a capacidade de intumescimento, motivo pelo qual os hidrogéis contendo o argilomineral apresentaram menores capacidades absolutas de absorção de estreptomicina.

TABELA 4.4 - Quantidade de sulfato de estreptomicina carregada para o hidrogel após imerso 120 em solução.

<b>Hidrogel</b>	<b>g(est)/g(compósito)</b>	<b>Q<sub>eq</sub> (est)</b>	<b>g(est)/Q<sub>eq</sub></b>
<b>PAAm</b>	3,90 ± 0,08 <sup>a4,a5</sup>	33,9 ± 0,6	0,115
<b>P-C</b>	4,32 ± 0,22 <sup>a5</sup>	36,2 ± 0,1	0,119
<b>P-Mag</b>	3,10 ± 0,20 <sup>a1,a2</sup>	26,9 ± 2,1	0,116
<b>P-C-Mag</b>	3,57 ± 0,18 <sup>a2,a3,a4</sup>	27,3 ± 2,9	0,130
<b>P-MMt</b>	3,01 ± 0,19 <sup>a1</sup>	25,8 ± 1,2	0,117
<b>P-MMt-Mag</b>	3,65 ± 0,34 <sup>a3,a4</sup>	27,9 ± 2,6	0,131
<b>P-MMt-C</b>	2,99 ± 0,21 <sup>a1</sup>	25,3 ± 1,0	0,118
<b>P-MMt-C-Mag 0,5</b>	2,97 ± 0,17 <sup>a1</sup>	24,9 ± 0,6	0,119
<b>P-MMt-C-Mag 1,0</b>	3,04 ± 0,19 <sup>a1,a2</sup>	22,3 ± 0,1	0,136
<b>P-MMt-C-Mag 2,0</b>	3,13 ± 0,15 <sup>a1,a2,a3</sup>	23,1 ± 0,1	0,135

Foi realizado um tratamento estatístico para a capacidade de sorção dos hidrogéis e os resultados estão indicados pelas letras a1 (indicando o menor valor de sorção) até a5 (indicando o maior valor de sorção). Os resultados indicam que os hidrogéis com maior capacidade de intumescimento apresentam maior capacidade de sorção de estreptomicina. Os modificantes CMC e MMt também contribuem para que os materiais tendam a carregar mais estreptomicina.

### **3.11. Liberação de estreptomicina pelos hidrogéis sintetizados**

As amostras que não contêm as nanopartículas magnéticas apresentam comportamentos de liberação bastante semelhantes independentemente da aplicação de campo magnético. Os valores de liberação no equilíbrio estão reportados na TABELA 3.5. Observando a porcentagem de ativo liberado pelos hidrogéis sem a aplicação de campo magnético pode-se concluir que cada modificante tem sua contribuição em reter a estreptomicina na estrutura do hidrogel. Os valores de liberação para o hidrogel PAAm são  $98,2 \pm 3,3\%$  e reduzem para  $74,7 \pm 2,0\%$  no hidrogel P-C;  $86,2 \pm 1,5\%$  no hidrogel P – Mag; e  $73,4 \pm 2,4\%$  no hidrogel P – MMt. A combinação de dois ou mais modificantes também faz com que as amostras retenham maior quantidade de ativo em sua estrutura: o hidrogel P – MMt – C libera  $67,7 \pm 1,0\%$  e a adição de magnetita a esse hidrogel reduz ainda mais o percentual liberado, atingindo  $62,0 \pm 3,8\%$  no hidrogel P – MMt – C – Mag 2,0. Pode-se observar esse comportamento através da análise estatística na liberação do ativo, onde a7 representa a amostra que mais liberou o ativo até a1 a que menos liberou, ou seja, ao adicionar os modificantes sem a aplicação de campo o hidrogel tende a reter mais a estreptomicina.

TABELA 5.5 - Quantidade e porcentagem de estreptomicina liberada pelos hidrogéis.

	$g_{(est)}/g_{(hidrogel)}$	$g_{(est)}/g_{(hidrogel)}$ *	% Liberada (equilíbrio)	% Liberada (equilíbrio)*
<b>PAAm</b>	$3,83 \pm 0,14$ a7, b1	$3,84 \pm 0,11$ a7, b1	$98,2 \pm 3,3$ a7, b1	$98,4 \pm 2,8$ a6, b1
<b>P-C</b>	$3,23 \pm 0,09$ a6, b1	$3,25 \pm 0,12$ a6, b1	$74,7 \pm 2,0$ a4,a5, b1	$75,2 \pm 2,7$ a2,a3, b1
<b>P-Mag</b>	$2,69 \pm 0,05$ a5, b1	$3,01 \pm 0,08$ a5, b2	$86,2 \pm 1,5$ a6, b1	$96,3 \pm 2,7$ a6, b2
<b>P-C-Mag</b>	$2,58 \pm 0,08$ a4,a5, b1	$2,80 \pm 0,07$ a4, b2	$72,4 \pm 2,1$ a3,a4, b1	$78,6 \pm 2,0$ a3,a4, b2
<b>P-MMt</b>	$2,21 \pm 0,09$ a2, b1	$2,17 \pm 0,06$ a1, b1	$73,4 \pm 2,4$ a4,a5, b2	$71,2 \pm 1,7$ a1,a2, b1
<b>P-MMt-Mag</b>	$2,35 \pm 0,04$ a2,a3, b1	$2,53 \pm 0,04$ a2,a3, b2	$78,4 \pm 1,3$ a5, b1	$84,3 \pm 1,2$ a4,a5, b2
<b>P-MMt-C</b>	$2,47 \pm 0,03$ a3,a4, b1	$2,44 \pm 0,04$ a2, b1	$67,7 \pm 1,0$ a2,a3, b1	$66,8 \pm 1,2$ a1, b1
<b>P-MMt-C-Mag 0,5</b>	$2,00 \pm 0,01$ a1, b1	$2,16 \pm 0,06$ a1, b2	$67,3 \pm 0,5$ a1,a2,a3, b1	$72,6 \pm 2,0$ a1,a2, b2
<b>P-MMt-C-Mag 1,0</b>	$1,95 \pm 0,06$ a1, b1	$2,40 \pm 0,05$ a2, b2	$64,8 \pm 1,9$ a1,a2, b1	$79,7 \pm 1,5$ a3,a4, b2
<b>P-MMt-C-Mag 2,0</b>	$1,88 \pm 0,12$ a1, b1	$2,69 \pm 0,04$ a3,a4, b2	$62,0 \pm 3,8$ a1, b1	$88,7 \pm 1,2$ a5, b2

\*Aplicando campo magnético

A quantidade total de ativo liberada pelos hidrogéis que contêm as nanopartículas magnéticas em sua estrutura se mostrou responsiva à aplicação de campo magnético. Em todos os casos os valores de liberação no equilíbrio aumentaram consideravelmente: por exemplo, no hidrogel (P – Mag), quando se aplica o campo magnético a quantidade total liberada aumenta de  $86,2 \pm 1,5$  para  $96,3 \pm 2,7$  se aproximando da mesma quantidade do material puro PAAm. Analisando a concentração das nanopartículas observa-se que a aplicação do campo magnético no material (P – MMt – C – Mag 0,5) provocou um aumento de cerca de 15,3 % na liberação; para o P-MMt-C-Mag 1,0, esse aumento foi de 20,4% e para o P-MMt-C-Mag 2,0, esse aumento foi de 43,1%, indicando que a presença das nanopartículas torna os hidrogéis magneto-responsivos e que a concentração das nanopartículas influencia diretamente na taxa de resposta ao campo magnético. O efeito do campo magnético pode ser observado também pelas análises estatísticas, onde os valores de liberação sem o campo magnético representados pela sigla b1, ao aplicar o campo magnético passam para b2, ou seja, passam a liberar maior quantidade de estreptomicina. Para os hidrogéis sem as nanopartículas magnéticas não se observaram mudanças com a aplicação do campo, o que indica o a sigla b1 para as amostras. A FIGURA 3.16 apresenta as curvas de cinética de liberação para os materiais estudados reportadas em quantidade de estreptomicina liberada.

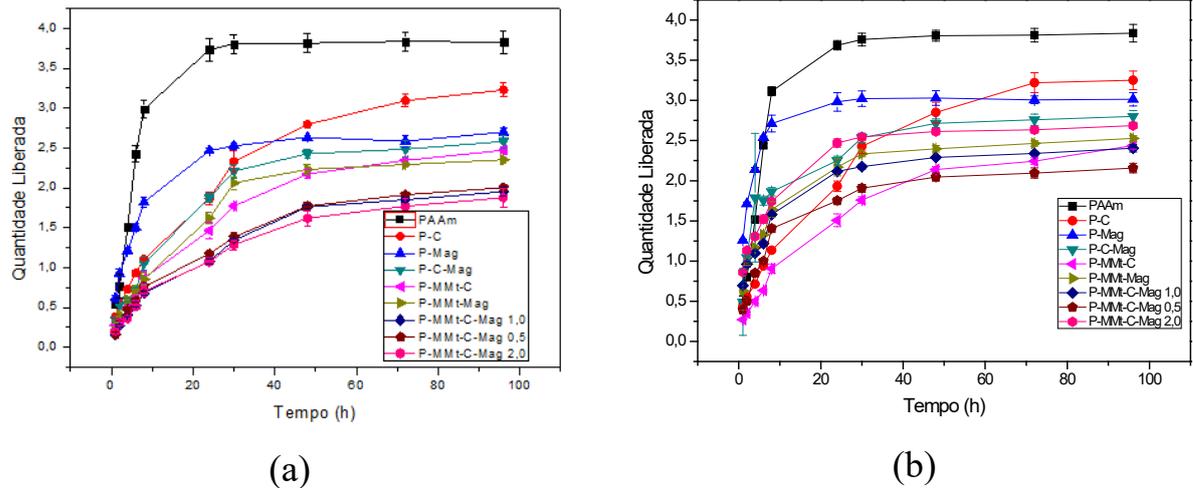


FIGURA 3.16 - Cinética de liberação em g/g (g de estreptomicina/g de hidrogel) liberado (a) sem aplicação de campo magnético (b) com aplicação de campo magnético.

Já a FIGURA 3.17 apresenta as curvas de liberação em relação a porcentagem sorvida. Como discutido anteriormente, as amostras que não contêm as nanopartículas magnéticas apresentam o mesmo comportamento de liberação com ou sem campo magnético. Quando se aplica campo observa-se uma taxa de liberação muito maior, principalmente nas primeiras horas de liberação em todos os materiais contendo as nanopartículas. Para melhor visualizar o efeito do campo magnético, a FIGURA 3.18 traz os materiais que contêm as nanopartículas.

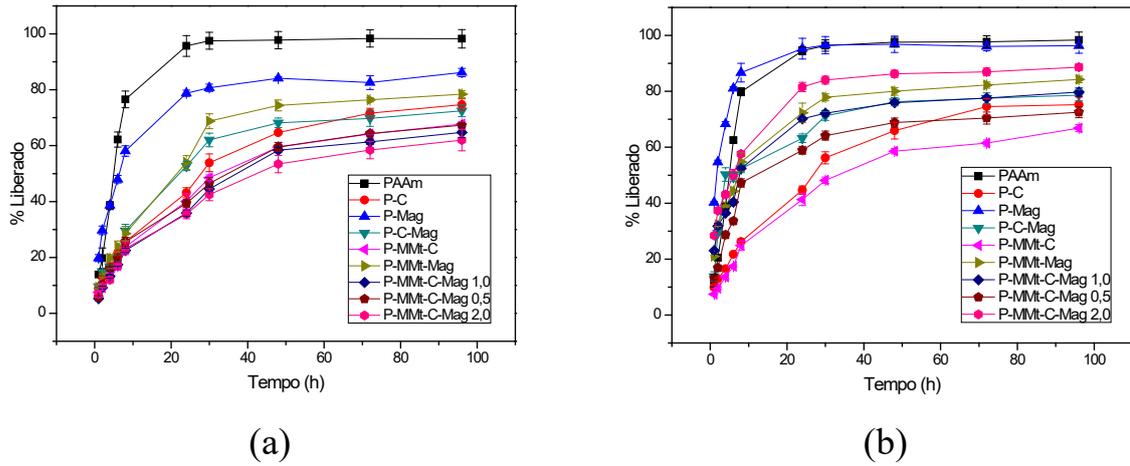


FIGURA 3.17 - Comparativo da cinética de liberação em porcentagem de estreptomicina liberado (a) sem aplicação de campo magnético (b) com aplicação de campo magnético de baixo campo.

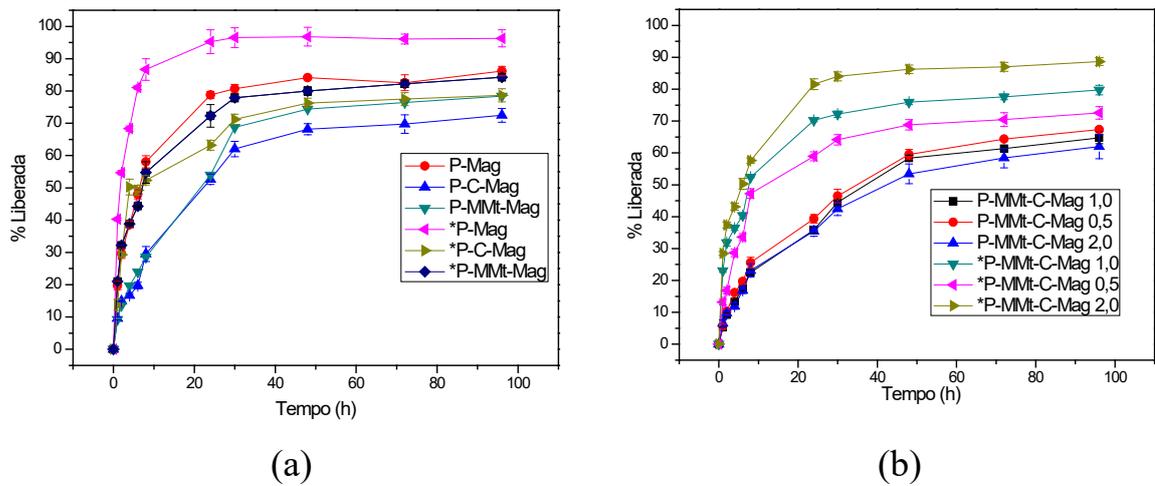


FIGURA 3.18 - Comparativo da cinética de liberação em porcentagem de estreptomicina para os hidrogéis que contêm as nanopartículas magnéticas.

Observa-se na Figura 3.18 (a) que tanto a CMC quanto a MMT retardam a liberação do ativo mesmo na presença da magnetita, porém esse efeito é minimizado com a aplicação do campo magnético. Visivelmente quando se

aplica o campo magnético todas as amostras passam a liberar o ativo mais rapidamente, e esse aumento na taxa de liberação é relativo a quantidade de Mag utilizada na síntese do material – ou seja, quanto maior a concentração das nanopartículas, maior a taxa de liberação observada.

### **3.11.1. Aplicação de campo magnético após o equilíbrio de liberação**

Os valores de liberação, principalmente para os hidrogéis P-MMt-C-Mag 0,5, 1,0 e 2,0 foram os que mais apresentaram retenção do ativo quando não aplicado o campo magnético. Sendo assim, para as amostras que fizeram seu processo de liberação até 96 horas sem a aplicação de campo magnético foi, a partir dessa hora, aplicado, o campo magnético e monitorado o comportamento de liberação por mais 24 horas, obtendo-se as curvas reportadas na FIGURA 3.19.

Observa-se que sem a aplicação do campo magnético a tendência de liberação se dá em relação a quantidade de Mag, ou seja, quanto maior a concentração das nanopartículas mais controlada se dá a liberação. Ao aplicar o campo magnético há uma inversão desse mecanismo, visto que o material que contém maior quantidade de Mag passa a liberar o ativo em maior quantidade. Os valores totais liberados em porcentagem desses materiais após a aplicação do campo magnético foram:  $73,8 \pm 1,8$  para o hidrogel P-MMt-C-Mag 0,5,  $82,8 \pm 2,6$  para o hidrogel P-MMt-C-Mag 1,0, e  $91,7 \pm 4,1$  para o hidrogel P-MMt-C-Mag 2,0. Estes valores são próximos aos obtidos para a liberação em 96 horas com a aplicação de campo magnético, indicando que, possivelmente, a quantidade de ativo que resta nos materiais tem uma interação forte com as cadeias do polímero, fazendo com que fiquem retidos em sua estrutura.

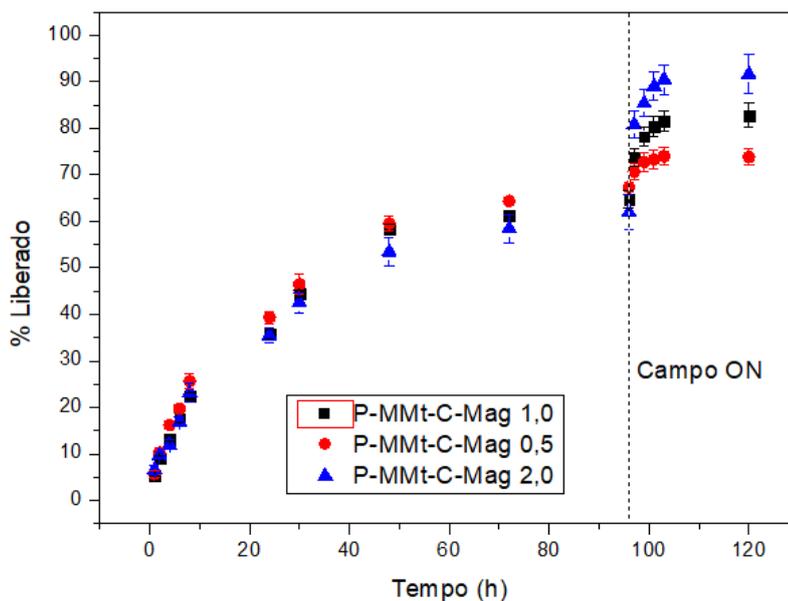


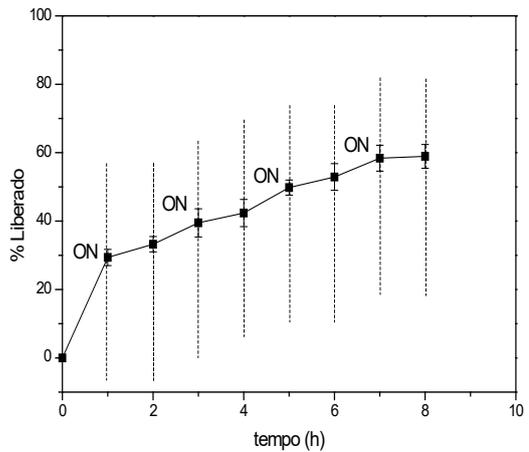
FIGURA 3.19- Efeito da aplicação de campo magnético nas amostras após 96 horas de liberação sem a aplicação de campo.

### 3.11.2. Liberação de estreptomicina pelos hidrogéis sintetizados variando-se a aplicação de campo magnético

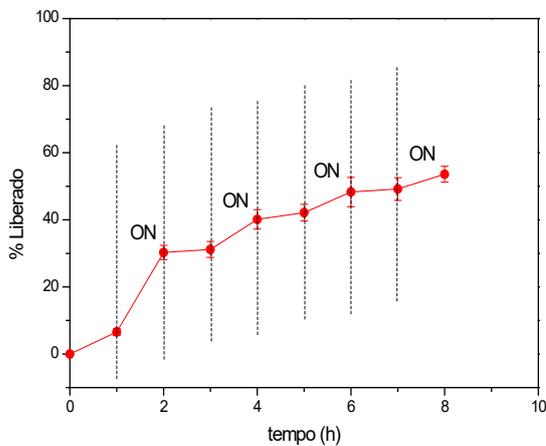
Com os resultados observados na FIGURA 3.19, houve a necessidade de observar os mecanismos de aplicação intercalada de campo magnético nos hidrogéis. Com isso, monitorou-se a curva de liberação para amostras do hidrogel P-MMt-C-Mag 2,0 alterando a aplicação de campo nas medidas, onde uma triplicata se inicia sem a aplicação de campo magnético e outra triplicata com a aplicação de campo magnético, como visto na FIGURA 3.20.

Pode-se observar que a aplicação de campo na primeira hora de liberação do ativo acelera o processo em uma ordem superior a quatro vezes. Entre a primeira e a segunda hora de liberação o campo magnético foi invertido, e o composto que passou a receber o campo magnético liberou o ativo cerca de cinco

vezes mais rápido. O mesmo comportamento foi observado nas horas subsequentes, porém em menor intensidade pois a quantidade de ativo liberada diminui consideravelmente logo nas primeiras horas de liberação. Nota-se que a aplicação intercalada de campo magnético gera um comportamento de liberação pulsátil, o qual, é muito importante para o controle e direcionamento de um sistema de liberação responsivo.



(a)



(b)

FIGURA 3.20 - Curvas de liberação para o hidrogel P-MMt-C-Mag 2,0 alternando-se a aplicação de campo magnético (a) início com aplicação de campo e (b) início sem a aplicação de campo.

Com os resultados obtidos pode-se propor um novo perfil de liberação, o qual é baseado em um sistema de liberação controlada que pode, no entanto, ser modificado com a aplicação de um campo magnético externo. A FIGURA 3.21, mostra novamente os perfis de liberação apresentados no início dessa Tese comparada com o perfil de um sistema responsivo, que é o comportamento de liberação dos hidrogéis com nanopartículas magnéticas sintetizados nesse trabalho.

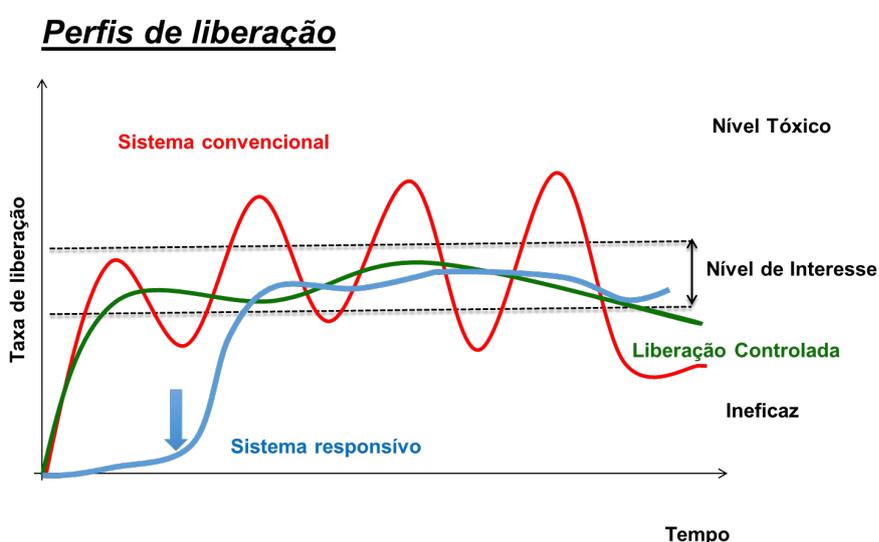


FIGURA 3.21 - Perfis de liberação de ativos e apresentação da curva de liberação responsiva.

A seta em azul apresentada na FIGURA 3.21 representa o momento da aplicação do campo magnético no material que está liberando o ativo. A partir desse momento ocorre uma mudança no perfil de liberação e o material passa a liberar o ativo mais rapidamente. Tal mecanismo é muito relevante para uma aplicação direcionada de determinados ativos, onde o material passa a liberar mais o fármaco onde o campo magnético é aplicado.

### 3.12. Modelos físico-químicos para liberação de fármacos

A liberação de um insumo, como um fármaco, a partir de hidrogéis leva em conta diversos fatores complexos e alguns modelos conhecidos na literatura que são utilizados para analisar os mecanismos de liberação. Este trabalho procurou aplicar os modelos mais utilizados para indicar o mais adequado para o uso com os nanocompósitos sintetizados e avaliar se a adição de uma nanopartícula magnética ou até mesmo a aplicação de um campo magnético modifica os parâmetros cinéticos de liberação da estreptomicina.

Foram escolhidos um modelo de primeira ordem, outro de pseudo-primeira-ordem, assim como dois modelos, um de segunda ordem e outro de pseudo-segunda-ordem. Os valores de  $R^2$  para os modelos estudados serão apresentados ao final desse capítulo e utilizados para a escolha do modelo que mais se adequou aos perfis de liberação dos hidrogéis.

#### 3.12.1. Modelos de Higuchi

Um modelo utilizado para descrever sistemas de liberação de fármacos a partir de matrizes poliméricas hidrofílicas é o de Higuchi<sup>96</sup>, que é representado pela Equação 3.2:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_h \sqrt{t} + b \quad \text{Equação 3.2}$$

Onde,  $k_H$  corresponde à constante de liberação de Higuchi;  $M_t$  e  $M_\infty$  são as massas do hidrogel no tempo  $t$  e no equilíbrio, respectivamente. Portanto, pode-se obter os valores de  $R^2$  por meio de gráficos de % liberada x  $t^{1/2}$ . Para cada amostra utilizada no processo de liberação de estreptomicina foram feitos gráficos como o mostrado na FIGURA 3.22, que traz o método utilizado para a avaliação dos

parâmetros de liberação para o hidrogel (P-MMt-C-Mag 2,0). Todos os modelos mostrados nesta Tese, trazem como exemplo a aplicação para esse hidrogel, que é o que contém maior quantidade de magnetita.

O modelo de Higuchi é baseado na lei de *Fick*, no entanto ainda apresenta limitações quando utilizado para a liberação de princípios ativos a partir de hidrogéis pois não leva em conta parâmetros importantes como o de relaxação das cadeias poliméricas durante o processo de liberação do fármaco. Este modelo se enquadra bem para matrizes que apresentam uma capacidade de intumescimento muito baixa ou praticamente nula, como o material relatado por Tahara *et al*<sup>97</sup>, que estudaram processos de liberação de diferentes ativos muito solúveis por uma matriz de acetato de celulose. Como no modelo de Fick, este modelo pode ser utilizado para obter os parâmetros cinéticos de um processo de liberação apenas nos 60% iniciais da curva, onde a velocidade de liberação se mantém praticamente constante.

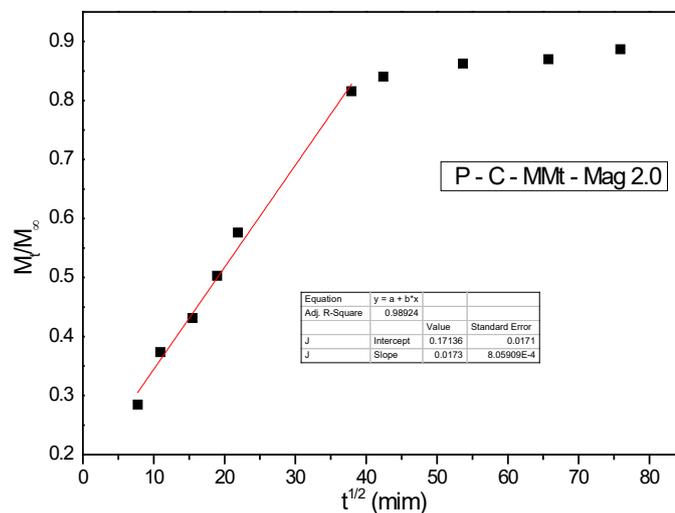


FIGURA 3.22 - Aplicação do modelo de Higuchi para o hidrogel P – C – MMt – Mag 2,0.

### 3.12.2. Modelo de pseudo-primeira-ordem

Outro modelo muito discutido na literatura e utilizado para avaliar os parâmetros de liberação de determinados ativos é o modelo de pseudo-primeira-ordem, muito utilizado para liberação lenta de fármacos a partir de matrizes hidrofílicas que não se desintegram, o que é o caso do nanocompósito estudado. O modelo de pseudo-primeira-ordem é baseado na equação de Lagergren na forma representada pela equação 3.3:<sup>98</sup>

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - q_t) \quad (3.3)$$

onde  $q_t$  é a capacidade de sorção no tempo  $t$ ,  $q_e$  é a capacidade de adsorção no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ ) e  $k_1$  é a constante de equilíbrio no modelo irreversível de primeira ordem (Equação 3.4)

$$\int_0^t \frac{1}{dt} = \int_0^{q_t} \frac{k_1(q_e - q_t)}{dq_t} \quad (3.4)$$

Resolvendo a equação aplicando as condições de contorno obtém-se a equação de pseudo-primeira-ordem, representada pela equação 3.5:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - kt \quad (3.5)$$

Onde,  $q_e$  é a quantidade liberada no equilíbrio e  $q_t$  é a quantidade liberada em um tempo ( $t$ ),  $k$  é uma constante cinética e  $t$  é o tempo. Logo, a partir do modelo de

pseudo-primeira-ordem podemos ter as informações de cinética de liberação e proximidade ao valor ideal por meio de um gráfico de  $\ln(q_e - qt)$  x  $t$ .

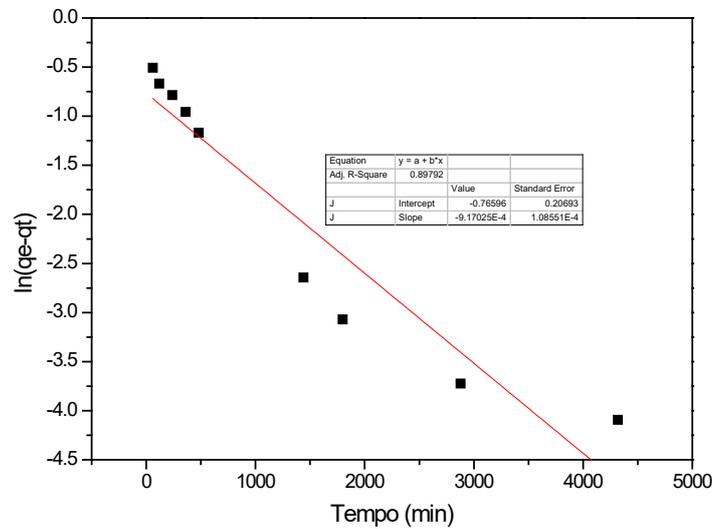


FIGURA 3.23 – Exemplo de Curva de  $\ln(q_e - q_t)$  x  $t$  utilizada para calcular  $R^2$  pelo modelo de Higuchi.

### 3.12.3. Modelos cinético de segunda ordem para hidrogéis

Reis *et al*<sup>99</sup> desenvolveram um modelo de liberação específico para hidrogéis que foi aplicado para avaliar a liberação de vitamina B-12, ácido cítrico e azul de metileno em função do tempo. O modelo de Reis parte do princípio de que, para o sistema de liberação de um determinado soluto a partir de hidrogéis, tanto a cinética de liberação quanto a absorção podem ser avaliadas por meio de alterações da sua concentração em solução. Os autores dividiram o modelo como de primeira e de segunda ordem. No modelo correspondente à segunda ordem cinética para a dessorção, a taxa de liberação de soluto a um dado momento é diretamente proporcional à diferença entre os quadrados das concentrações de soluto liberado e adsorvido e que pressupõe que haja modificação nos caminhos de difusão em função de modificações na forma do hidrogel durante o processo. Para tanto, leva-se em conta o parâmetro  $\alpha = F_{\max}/(1 - F_{\max})$  que expressa a

afinidade físico-química do soluto para o hidrogel e o solvente. No modelo cinético de segunda ordem, tanto a difusão Fickiana quanto os mecanismos macromoleculares de relaxação controlada são considerados. O modelo para a liberação de segunda ordem é dado pela equação 3.6:

$$F_R = \frac{F_{\max}(e^{2(\frac{k_R}{\alpha})t} - 1)}{1 - 2F_{\max} + e^{2(\frac{k_R}{\alpha})t}} \quad (3.6)$$

onde a constante de liberação  $k_r$  para cada nanocompósito é determinada pelo coeficiente angular do gráfico apresentados na FIGURA 3.24.

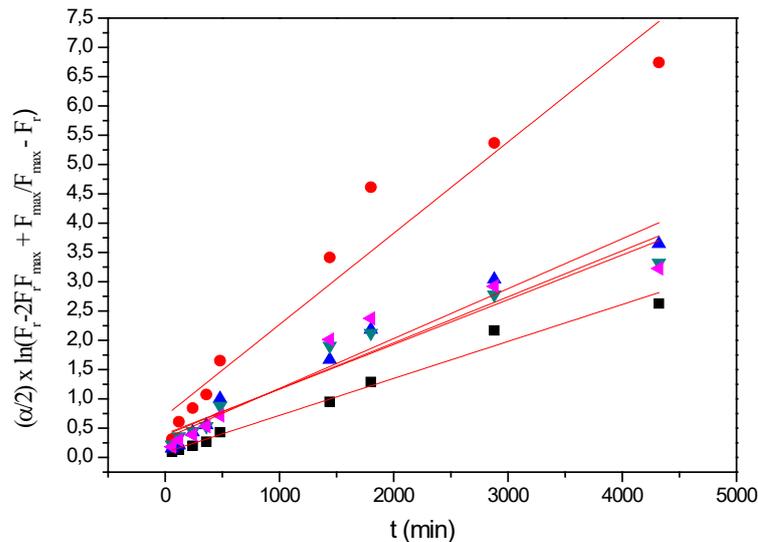


FIGURA 3.24 - Exemplos de curvas utilizadas para cálculos de R2 para o modelo de segunda ordem proposto por Reis.

O modelo de segunda ordem de Reis se enquadra muito bem para hidrogéis intumescidos em solução de ativo que apresentam concentração baixa,

quando a solução de intumescimento chega próxima a saturação, que é o caso desse estudo o modelo apresenta falhas.

#### 3.12.4. Modelo de pseudo-segunda-ordem

O modelo de pseudo-segunda-ordem tem origem na equação de Ngah, Ghani e Kamari (2005), a qual diz:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (3.7)$$

onde  $k_2$  é a constante de velocidade de segunda ordem. Integrando a equação com os limites de integração definidos para  $t = 0$  e  $t = t$  e  $q_t = 0$  e  $q_t = q_t$ , obtém-se a equação 3.8:

$$\int_0^t \frac{1}{dt} = \int_0^{q_t} \frac{k_2(q_e - q_t)^2}{dq_t} \quad (3.8)$$

Resolvendo a solução com as condições de contorno dadas obtém-se a equação que representa o modelo de pseudo-segunda-ordem:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{kq_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (3.9)$$

Onde,  $t$  é o tempo,  $q_t$  é a concentração no tempo  $t$ ;  $q_e$  é a concentração de estreptomicina liberada por grama de hidrogel no equilíbrio e  $k$  é a constante cinética de liberação.

Portanto, para observar se este modelo se enquadra para a liberação em questão deve-se realizar as curvas de  $t/q_t$  x  $t$ . A quantidade de estreptomicina

liberada  $q_e$  e a constante cinética  $k$  podem ser calculadas pelo coeficiente angular e pelo coeficiente linear da reta obtida pela FIGURA 3.25 respectivamente.

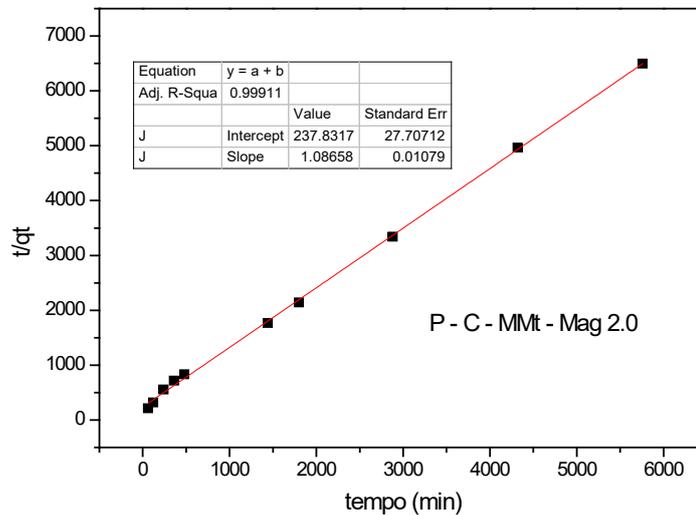


FIGURA 3.25 - Curvas de  $t/q_t \times t$  utilizadas para calcular os parâmetros de liberação pelo modelo de pseudo-segunda-ordem

### 3.12.5. Comparativo dos modelos cinéticos utilizados

Todos os modelos estudados foram aplicados para verificar a liberação de estreptomicina pelos hidrogéis de acordo com os valores de  $R^2$  apresentados na TABELA 3.6. Os coeficientes de correlação  $R^2$  para os gráficos lineares de  $t/q_t$  vs  $t$  obtidos aplicando-se o modelo de pseudo-segunda-ordem foram maiores que 0,98 para todos os hidrogéis estudados, sendo o modelo mais indicado e que fornece a melhor correlação dos dados. Isso sugere que este sistema de liberação não é uma reação de primeira ordem e que o modelo de pseudo-segunda-ordem, com base no pressuposto de que o controle da taxa de liberação pode ocorrer por liberação química ou quimisorção envolvendo as forças de valência por meio do compartilhamento ou troca de elétrons entre ativo e hidrogel.

TABELA 6.6 - Valores de R<sup>2</sup> obtidos para os para os sistemas de liberação utilizando diferentes modelos.

Modelos	Higuchi		pseudo 1 <sup>a</sup> ordem		2 <sup>a</sup> ordem		pseudo 2 <sup>a</sup> ordem	
	Equações							
	$\frac{M_t}{M_\infty} = k_h \sqrt{t} + b$		$\ln(q_\infty - q_t) = \ln q_\infty - kt$		$F_R = \frac{F_{\max}(e^{2(\frac{k_R}{\alpha})t} - 1)}{1 - 2F_{\max} + e^{2(\frac{k_R}{\alpha})t}}$		$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k} q_e^2 + \frac{t}{q_e}$	
Hidrogel	R <sup>2</sup>	*R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	*R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	*R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	*R <sup>2</sup>
PAAm	0,856	0,823	0,916	0,858	0,822	0,856	0,995	0,995
P-C	0,998	0,994	0,992	0,932	0,989	0,928	0,982	0,982
P-Mag	0,954	0,750	0,779	0,820	0,780	0,808	0,999	0,999
P-C-Mag	0,963	0,662	0,964	0,958	0,963	0,961	0,988	0,998
P-MMt-C	0,983	0,981	0,995	0,980	0,994	0,981	0,985	0,988
P-MMt-Mag	0,996	0,948	0,969	0,940	0,967	0,939	0,990	0,999
P-MMt-C-Mag 0,5	0,987	0,961	0,979	0,940	0,977	0,938	0,984	0,998
P-MMt-C-Mag 1,0	0,979	0,898	0,990	0,955	0,988	0,956	0,989	0,999
P-MMt-C-Mag 2,0	0,971	0,989	0,994	0,898	0,993	0,894	0,982	0,999

\*com aplicação de campo magnético

Geralmente, a concentração do ativo a ser liberado tem grande influência nos modelos de liberação. Quando a concentração do ativo é baixa, modelos de primeira ordem se aproximam mais da realidade do que modelos de segunda ordem. Já quando a concentração de ativo é alta, os modelos de segunda ordem e pseudo-segunda-ordem têm uma maior concordância.<sup>100</sup> Isso pode ser explicado pela FIGURA 3.27: quando há concentração de soluto maior no meio, há muito mais chances de ocorrer competição da quimisorção ou ligação química entre ativo e hidrogel, podendo ocorrer rearranjos na estrutura onde um sítio de interação do hidrogel pode se combinar e recombina com as moléculas do ativo. Assim, a concentração de sítios ativos varia ao longo do processo de dessorção, caracterizando um processo de 2ª ordem. Num sistema de primeira ordem, o processo de interação do ativo com os sítios do hidrogel ocorreria de forma instantânea, podendo, portanto, esta concentração de sítios ser considerada constante.

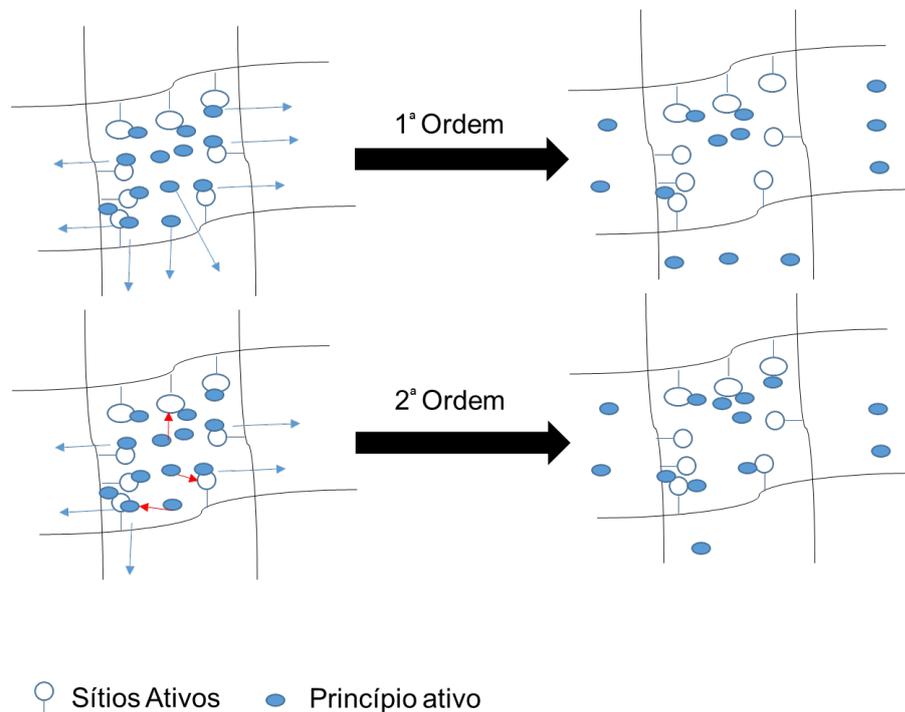


FIGURA 3.26- Esquema representativo das diferenças de modelos de primeira e segunda ordem no processo de liberação de um determinado ativo.

A constante cinética de liberação  $k$  foi calculada por meio de gráficos como o representado pela FIGURA 3.26 e os valores obtidos estão retratados na TABELA 3.7.

De acordo com os valores de  $k$ , analisando primeiramente os valores obtidos sem a aplicação de campo magnético, conclui-se que a cinética de velocidade é significativamente reduzida na presença de todos os modificantes isoladamente, indicando que cada modificante aumenta e interação entre a estreptomicina e o hidrogel causando barreiras para a liberação e consequentemente reduzindo a constante cinética  $k$ , que apresentou o seu maior valor para o hidrogel puro PAAm ( $3,81 \pm 0,09 \times 10^{-3}$ ). A combinação dos modificantes contribui ainda mais para o decréscimo da constante  $k$  que teve seu menor valor para o material P-MMt-C-Mag 2,0, ou seja, contendo todos os modificantes com a maior concentração de Mag.

TABELA 7.7 - Valores da constante de velocidade obtidas para o modelo de pseudo-segunda-ordem para os hidrogéis sintetizados.

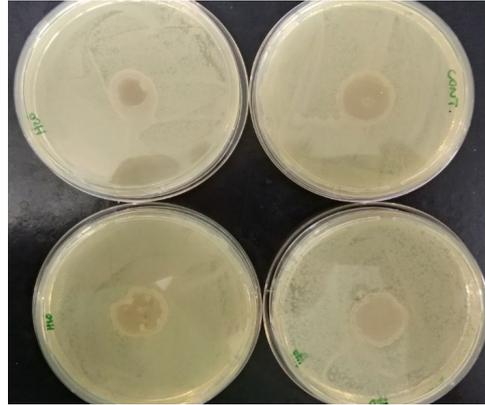
	Sem campo ( $\times 10^{-3}$ )	Com campo ( $\times 10^{-3}$ )
<b>PAAm</b>	$3,81 \pm 0,09$	$3,88 \pm 0,08$
<b>P-C</b>	$0,66 \pm 0,02$	$0,69 \pm 0,06$
<b>P-Mag</b>	$2,86 \pm 0,08$	$13,3 \pm 0,14$
<b>P-C-Mag</b>	$0,74 \pm 0,03$	$2,13 \pm 0,09$
<b>P-MMt-C</b>	$0,47 \pm 0,04$	$0,46 \pm 0,03$
<b>P-MMt-Mag</b>	$0,93 \pm 0,06$	$2,51 \pm 0,09$
<b>P-MMt-C-Mag 0,5</b>	$0,48 \pm 0,02$	$1,20 \pm 0,07$
<b>P-MMt-C-Mag 1,0</b>	$0,40 \pm 0,03$	$2,16 \pm 0,08$
<b>P-MMt-C-Mag 2,0</b>	$0,36 \pm 0,02$	$3,56 \pm 0,09$

Quando se aplica o campo magnético na liberação observa-se um comportamento da constante  $k$  totalmente diferente, onde a presença de Mag influencia diretamente no valor da constante, aumentando-a consideravelmente, apresentando seu maior valor para o hidrogel P – Mag que foi de  $13,3 \pm 0,14$ , valor bastante superior que o obtido nos demais materiais. Isso se deve ao fato de que nessa condição os modificantes CMC e MMt, que contribuem mais fortemente retardando a liberação, não estão presentes na estrutura e a Mag quando se aplica o campo se comporta de maneira diferente facilitando a liberação. A concentração de Mag também tem influência direta no valor de  $k$ , pois observa-se um aumento de 2,5; 5,4 e 9,9 vezes para as concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0 (m/m), respectivamente.

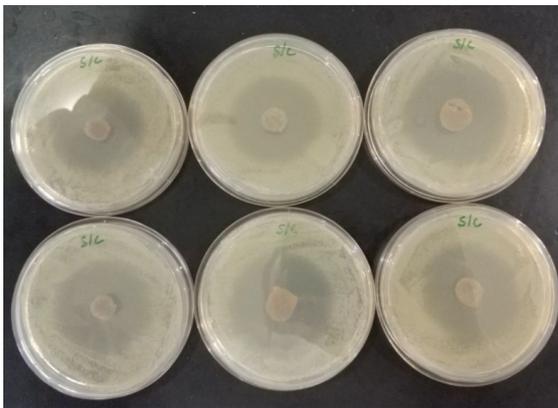
Para os materiais que não contêm as nanopartículas magnéticas, não foram observadas diferenças significativas na constante  $k$ , indicando a atuação do campo apenas nas nanopartículas magnéticas.

### **3.13. Liberação de estreptomicina em cultura de bactérias**

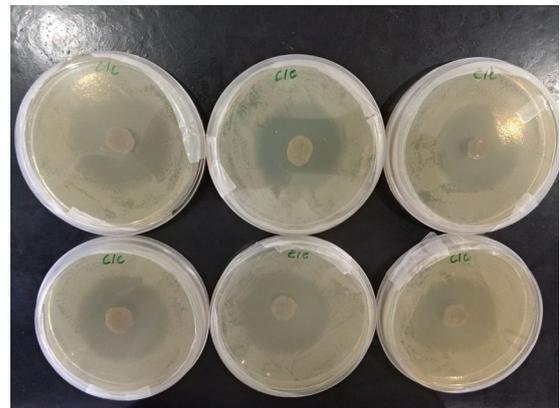
A FIGURA 3.27 mostra fotografias digitais dos experimentos de liberação de estreptomicina em culturas de bactérias *Escherichia coli*. No grupo controle (materiais intumescidos em água) não só se observou a não inibição das bactérias como também elas cresceram em maior quantidade próximo ao polímero, indicando que, possivelmente, pelas amostras apresentarem CMC em sua estrutura as bactérias se desenvolvem mais. Já para as amostras contendo estreptomicina, observou-se em todos os casos atividade antibacteriana.



(a)



(b)



(c)

FIGURA 3.27- Ensaio antimicrobianos para (a) Hidrogel intumescido em água, (b) intumescido em solução de estreptomicina sem a aplicação de campo magnético e (c) intumescido em solução de estreptomicina com a aplicação de campo na liberação.

A TABELA 3.8 mostra os valores da massa de hidrogel utilizado, o diâmetro do hidrogel após o intumescimento em solução de estreptomicina  $10 \text{ g.L}^{-1}$  e o raio de inibição, que foi considerado como a distância da extremidade do hidrogel até as primeiras bactérias visíveis na placa de Petri. A FIGURA 3.28 mostra um esquema explicativo para os valores abordados na tabela.

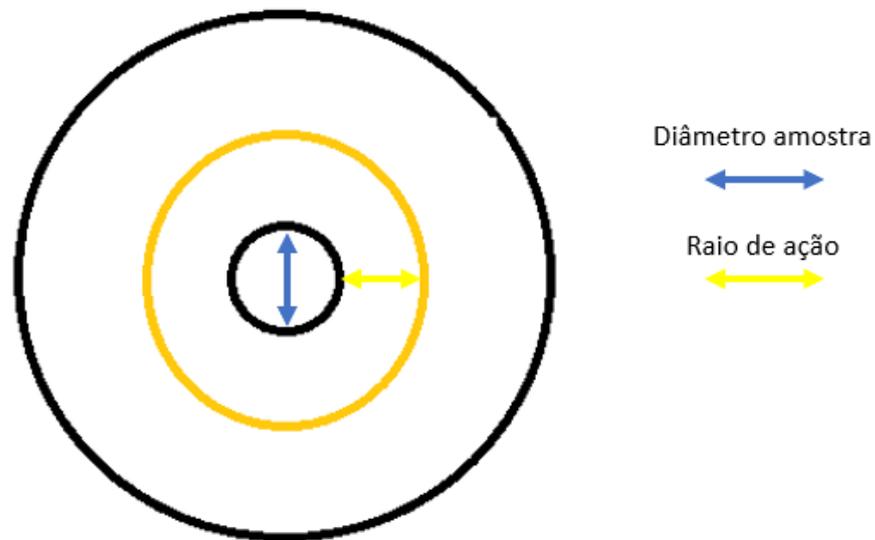


FIGURA 3.28 - Representação dos valores do raio de ação de diâmetro dos hidrogéis utilizados nos ensaios de liberação em meio de cultura.

Embora os tamanhos dos raios de inibição das bactérias sejam visualmente muito próximos, uma análise matemática relacionando a massa inicial e a área de inibição das bactérias são importantes variáveis para observar se o efeito do campo magnético está agindo no processo de liberação do fármaco no meio de cultura. A TABELA 3.9 mostra os valores de massa da amostra, área de inibição e a razão entre a massa de hidrogel seco utilizado e a área de inibição de bactérias. Sem a aplicação de campo magnético as amostras apresentaram massa média de  $26,99 \pm 1,24 \text{ mm}^2/\text{mg}$  enquanto as amostras que tiveram seu processo de liberação sob a ação de campo magnético o valor médio foi de  $32,85 \pm 2,62 \text{ mm}^2/\text{mg}$ , ou seja, houve uma inibição de aproximadamente 21,7 % maior quando se aplica o campo magnético num período de 24 horas em meio de cultura, o tratamento estatístico relacionando os valores de raio de ação e massa inicial de hidrogel, indicou que os valores são diferentes, portando há estatisticamente um aumento real de inibição quando aplica-se o campo magnético. Esse resultado de

certa forma pode se relacionar com os obtidos a partir da liberação em PBS, onde o efeito do campo magnético também foi observado aumentando a quantidade e velocidade de ativo liberado.

TABELA 8.8 - Valores de massa/diâmetro dos hidrogéis intumescidos em solução de estreptomicina e seu raio de inibição bacteriana em placa petri com e sem a aplicação de campo magnético.

Sem aplicação de campo magnético <sup>a1</sup>		
Massa hidrogel seco (mg)	área de ação (mm <sup>2</sup> )	Inibição mm <sup>2</sup> /mg
25,4	736,97	29,01
24,8	674,84	27,21
31,2	843,50	27,04
23,5	628,69	26,75
30,1	806,86	26,81
19,9	480,47	25,14
Média		26,99 ± 1,24
Com Aplicação de campo magnético <sup>a2</sup>		
26,5	982,62	37,08
24,4	817,97	33,52
26,2	827,12	31,57
25,9	846,60	32,69
22,3	649,30	29,09
20,3	672,99	33,15
Média		32,85 ± 2.62

## Capítulo IV: Conclusões finais e perspectivas futuras

Esse trabalho teve como objetivo a síntese de um hidrogel magnético com base na modificação com nanopartículas magnéticas funcionalizadas, de modo que essas nanopartículas se ligassem quimicamente a estrutura do hidrogel garantindo mudanças consideráveis em suas propriedades, para as quais foram observadas as evidências em diversas caracterizações durante esse trabalho.

Pequenas quantidades de magnetita (0,5 – 2,0 %) em massa provocam a mesma queda de intumescimento que 25 % do argilomineral, indicando que a maneira com que os modificantes se ligam na estrutura do polímero são diferentes. Durante a síntese dos hidrogéis com as nanopartículas magnéticas funcionalizadas, na etapa de adição de hidrogênio as nanopartículas se dispersaram no meio, o mesmo não ocorre quando se faz a síntese com as nanopartículas magnéticas sem recobrimento polimérico, que se dispersam antes da etapa de aplicação do nitrogênio, este é mais um indício de ligação química das nanopartículas modificadas na estrutura do hidrogel.

Todos os hidrogéis modificados com nanopartículas magnéticas responderam à aplicação de campo magnético, modificando a velocidade de absorção de água e também a velocidade e capacidade de liberação de estreptomicina, onde os materiais liberam mais rapidamente com a aplicação do campo magnético, e têm um comportamento de liberação pulsátil em função da aplicação de campo.

Ensaio biológicos de crescimento bacteriano indicaram que os materiais com a estreptomicina incorporada são eficientes em inibir o crescimento das bactérias, e a aplicação de campo magnético no provocou um aumento de aproximadamente 16,4 % no raio de ação do hidrogel em um período de 24 horas.

Isso indica que o produto pode ser aplicado em tratamentos cutâneos em animais infectados com algum tipo de bactéria.

Portanto, os resultados obtidos nesse trabalho possibilitam concluir que os hidrogéis magneto-responsivos sintetizados podem ser utilizados em sistemas de liberação direcionados de fármacos, ou seja, o material irá liberar o ativo mais eficientemente em uma área que esteja sob ação de um campo magnético.

Para trabalhos futuros, seria desejável estudar a aplicação desses materiais frente a diferentes intensidades de campo magnético, visto que não foi possível nesse trabalho conseguir um campo magnético homogêneo superior a 0,23 T. De modo a obter maiores informações sobre as ligações que ocorrem nos nanocompósitos, seria interessante sintetizar os materiais com outras nanopartículas funcionalizadas, preferencialmente não magnéticas para analisar os nanocompósitos por RMN. Sintetizar e caracterizar materiais que possam ser responsáveis a outros estímulos externos (intensidade luminosa, temperatura, dentre outras).

## Capítulo V: Referências Bibliográficas

---

1. AZEVEDO, M. M. Sistemas poliméricos de liberação controlada utilizando micro e nanopartículas encapsulando violaceína: caracterização, atividade biológica, consequências e perspectivas. Campinas, Instituto de Química, Departamento de Físico-Química - Universidade Estadual de Campinas, 2005. Tese de doutorado.
2. Brannon-Peppas, L. (1997) Biomaterials: Polymers in Controlled Drug Delivery, Medical Plastics and Biomaterials Magazine. [www.m.mddionline.com](http://www.m.mddionline.com)
3. BRUSCHI M.L; PANZERI, H.; FREITAS, O; LARA, E. H. G. & GREMIÃO, M. P. D. “Sistemas de liberação de fármaco intrabolsa periodontal”. Rev. Bras. de Ciên. Farm., 42 (1): 29-47, 2006.
4. STEINBERG, D. & FRIEDMAN, M. “Sustained release drug delivery devices for local treatment of dental diseases”. In: TYLE P. (ed.). Drug Delivery Devices. New York: Marcel Dekker, 1988 vol. 1, p. 491-515.
5. CHU, H.; HOSEN, Y. & YAGI, K. “NO, N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> fluxes in winter barley field of japanese andisol as affected by n fertilizer management”. Soil Biol. Biochem., 39 (1) : 330–339, 2007.
6. CHEN, X.; GAMBHLER, S. S. & CHEON, J. “Theranostic nanomedicine”. Accounts Chem. Res., 44 : 841 , 2011.
7. Lee, D.; Koo, H. E.; Sun, I.C.; Ryu, J.H.; Kim, K. & Kwon, I.C.; “Multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis”. Chem. Soc. Rev., 41 : 2656-2672, 2012.
8. KANAPATHIPILLAI, M.; BROCK, A. & INGBER, D. E. “Nanoparticle targeting of anti-cancer drugs that alter intracellular signaling or influence the tumor microenvironment”. Adv. Drug Deliv. Rev., 79 : 107, 2014.
9. FELBER, A. E.; DUFRESNE, M. H. & LEROUX, J. C. “PH-Sensitive vesicles, polymeric micelles, and nanospheres prepared with polycarboxylates”. Adv. Drug Deliv. Rev., 64 : 979, 2012.
10. FLEIGE, E.; QUADIR, M. A. & HAAG, R. “Stimuli-Responsive polymeric nanocarriers for the controlled transport of active compounds: concepts and applications”. Adv. Drug Deliv. Rev., 64 : 866, 2012.
11. LIU, J.; HUANG, Y.; KUMAR, A.; TAN, A.; JIN, S.; MOZHI, A. & LIANG, X.J. “PH-Sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy”. Biotechnol. Adv., 32 : 693, 2014.

- 
12. TAVANO, L. & MUZZALUPO, R. "Multi-Functional vesicles for cancer therapy: the ultimate magic bullet. colloids and surfaces". *Biointerfaces.*, **147** : 161, 2016.
  13. KHARE, A. R. & PEPPAS, N. A. "Swelling/deswelling of anionic copolymer gels". *Biomaterials.*, **16** : 559, 1995.
  14. CAMPESE, G. M.; TAMBOURGI, E. B.; GUILHERME, M. R.; MOURA, M. R. DE; MUNIZ, E. C. & YOUSSEF, E. Y. "Resistência mecânica de hidrogéis temo-sensíveis constituídos de alginato-ca<sup>2+</sup>/pnipaam, tipo semi-ipn". *Quim. Nova.*, **1649** : 30, 2007.
  15. WICHTERLE, O. & LÍM, D. "Hydrophilic gels for biological use" *Nature.*, **185** : 117, 1960.
  16. VOLDRICH, Z.; TOMÁNEK, Z.; VACÍK, J. & KOPECEK, J. J. "Long-term experience with the poly(glycol monomethacrylate) gel in plastic operations of the nose" *J. Biomed. Mater. Res.*, **9** : 675, 1975.
  17. KOPECEK, J.; VACÍK, J. & LÍM, D. J. "Permeability of membranes containing ionogenic groups" *J. Polym. Sci.*, **9** : 2801, 1971.
  18. SUZUKI, A. & TANAKA, T. "Phase transition in polymer gels induced by visible light" *Nature.*, **346** : 345, 1990.
  19. SINGH, A.; SHARMA, P. K.; GARG, V. K. & GARG, G. "Hydrogels: a review". *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, **4** : 97, 2010.
  20. LEONE, G.; DELFINI, M.; DI COCCO, M. R.; BORIONI, A. & BARBUCCI, R. "The applicability of an amidated polysaccharide hydrogel as a cartilage substitute: structural and rheological characterization". *Carbohydr. Res.*, **343** : 317, 2008.
  21. SORBARA, L.; JONES, L. & WILLIAMS-LYN, D. "Induced papillary conjunctivitis with silicone hydrogel lenses". *Cont. Lens. Anterior. Eye.*, **32** : 93, 2009.
  22. ZHANG, L.; RAKOTONDRADANY, F.; MYLES, A. J.; FENNIRI, H. & WEBSTER, T. J. "Enhanced osteoblast adhesion on self-assembled nanostructured hydrogel scaffolds". *Biomaterials.*, **30** : 1309, 2009.
  23. HAMIDI, M.; AZADI, A. & RAFIEI, P. "Hydrogel nanoparticles in drug delivery". *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **60** (15): 1638, 2009.
  24. KASHYAP, N.; KUMAR, N. & KUMAR, M. "Hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications". *Crit. Rev. Ther. Drug. Carr. Syst.*, **22** : 107, 2005.

- 
25. KAIHARA, S.; MATSUMURA, S. & FISHER, J. "Synthesis and characterization of cyclic acetal based degradable hydrogels". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 68 (1) : 67, 2008.
26. STAMATIALLIS, D. F.; PAPPENBURG, B. J.; GIRONE'S, M.; SAIFUL, S.; BETTAHALLI.; N.M.; SCHMITMEIER, S. & WESSLING, M. "Medical applications of membranes: drug delivery, artificial organs and tissue engineering". *J. Membr. Sci.*, 308 (1) : 1, 2008.
27. ZHANG, L.; LI K.; XIAO, W.; ZHENG, L.; XIAO, Y.; FAN, H. "Preparation of collagen–chondroitin sulfate hyaluronic acid hybrid hydrogel scaffolds and cell compatibility in vitro". *Carbohydr. Polym.*, 84 (1) : 118, 2011.
28. SAUL, J. M. & WILLIAMS, D. F. "Chapter 35 - hydrogels in regenerative medicine". *Princ. Regen. Med.*, 2 : 637, 2011.
29. SIKAREEPAISAN, P.; RUKTANONCHAI, U. & SUPAPHOL, P. "Preparation and characterization of asiaticoside-loaded alginate films and their potential for use as effectual wound dressings". *Carbohydr. Polym.*, 83 (4) : 1457, 2011.
30. ROY, D.; CAMBRE, J. N. & BRENT, S. "Sumerlin future perspectives and recent advances in stimuli-responsive materials". *Prog. Polym. Sci.*, 35 (12) : 278, 2010.
31. KRASKO, P.; MCCANN, T. E.; THACH, T.; LAABS, T. L.; GELLER, H. M. & LIBERA, M. R. "Length-Scale mediated adhesion and directed growth of neural cells by surface-patterned poly (ethylene glycol) hydrogels". *Biomaterials.*, 30 (5) : 721, 2009.
32. PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W. & ICHIKAWA, H. "Hydrogels in pharmaceutical formulations". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50 (1) : 27, 2000.
33. BUWALDA, S. J.; BOERE, K.W.M.; DIJKSTRA, P.J.; VERMONDEN, T. & HENNINK, W. E. "Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials". *J. Control. Rel.*, 190 : 254, 2014.
34. ENAS, M. A. "Hydrogel: preparation, characterization, and applications. A review". *J. Adv. Res.*, 6 (2) : 105, 2015.
35. TAKASHI, L.; HATSUMI, T.; MAKOTO, M.; TAKASHI, I.; TAKEHIKO, G. & SHUJI, S. "Synthesis of porous poly (n-isopropylacrylamide) gel beads by sedimentation polymerization and their morphology". *J. Appl. Polym. Sci.*, 104 (2) : 842, 2007.

- 
36. YANG, L.; CHU, J. S. & FIX, J. A. "Colon-Specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation". *Int. J. Pharm.*, **235** : 1, 2002.
37. YOSHUNARI, E.; FURUKAWA, H. & HORIE, K. "Fluorescence study on the mechanism of rapid shrinking of grafted poly(n-isopropylacrylamide) gels and semi-ipn gels". *Polymer.*, **46** : 7741, 2005.
38. MA, J.; XU, Y.; FAN, B.; & LIANG, B. "Preparation and characterization of sodium carboxymethylcellulose /poly(N-isopropylacrylamide)/clay semi-IPN nanocomposite hydrogels". *Eur. Polym. J.*, **43** : 2221, 2007.
39. AOUADA, F. A. Síntese e Caracterização de Hidrogéis de Poliacrilamida e Metilcelulose para Liberação Controlada de Pesticidas". São Carlos, Programa de Pós Graduação em Química – UFSCar, 2009. Tese de doutorado. 12 p.
40. SINGH, B. & CHAUHAN, N. "Modification of psyllium polysaccharides for use in oral insulin delivery". *Food Hydrocolloids.*, **23**: 928, 2009.
41. RUSSELL, L. B.; HUNSICKER, P. R.; CACHEIRO, N. L. A. & GENEROSO, W. M. "Induction of specific-locus mutations in male germ cells of the mouse by acrylamide monomer". *Mutat. Res.*, **262** : 101, 1991.
42. RUSSO, A.; GABBANI, G. & SIMONCINI, B. "Weak genotoxicity of acrylamide on premeiotic and somatic cells of the mouse". *Mutat. Res.*, **309** : 263, 1994.
43. MCCOLLISTER, D. D.; HAKE, C. L.; SADEK, S. E. & ROWE, V. K. "Toxicologic investigations of polyacrylamides". *Toxicol. Appl. Pharmacol.* ,7 (5) : 639, 1965.
44. CHRISTOFANO, E. E.; Frawley, J. P.; Fancher, O. E. & Keplinger, M. L. "The toxicology of modified polyacrylamide resin." *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **14** : 616, 1969.
45. GUILLOT, J. P.; GIAUFFRET, J.Y.; MARTINI, M. C. GONNER, J. F. & SOULE, G. "Safety evaluation of gums and thickeners Use In Cosmeticformulations". *Int. J. Cosmet. Sci.*, **4** : 53, 1982.
46. AOUADA, F. A.; MOURA, M. R.; ORTS, W. J. & MATTOSO, L. H. C. "Polyacrylamide and methylcellulose hydrogel as delivery vehicle for the controlled release of paraquat pesticide". *J. Mater. Sci.*, **45** : 4977, 2010.
47. BORTOLIN, A.; AOUADA, F. A.; MOURA, M. R.; RIBEIRO, C.; LONGO, E. ; & MATTOSO, L. H. C.. "Application of polysaccharide hydrogels in adsorption and controlled-extended release of fertilizers processes". *J. Appl. Polym. Sci.*, **123** : 2291, 2012.

- 
48. PENG, L.; SIDDARAMAIAH, N. H. K.; SEOK, B. H. & Lee, J. H. "Novel PAAm/Laponite clay nanocomposite hydrogels with improved cationic dye adsorption behavior". *Compos. Part-B. Eng.*, **39** : 756, 2008.
49. YUMEI, Y.; XIANG S. & PIXIN. W. "Fabrication and characterization of microstructured and pH sensitive interpenetrating networks hydrogel films and application in drug delivery field". *Eur. Pol. J.*, **45** : 2, 2009.
50. RZAEV, Z.M.O.; DINCER, S. & PISKIN, E "Functional copolymers of N isopropylacrylamide for bioengineering applications". *Prog. Polym. Sci.*, 32 (5) : 534, 2007.
51. CHATERJI, S.; KWON, I. K. & PARK, K. "Smart polymeric gels: redefining the limits of biomedical devices". *Prog. Polym. Sci.*, 32 (8) : 1083, 2007.
52. HE, C.; KIM, S.W. & LEE, D.S. "in situ gelling stimuli-sensitive block copolymer hydrogels for drug delivery" *J. Control. Rel.*, 127 (3) : 189, 2008.
53. GIL, E. S. & HUDSON, S. M. "Stimuli-Reponsive polymers and their bioconjugates". *Prog. Polym. Sci.*, 29 (12) : 1173, 2004.
54. FRIMPONG, R. A.; HILT, J. Z. "Hydrogel nanocomposites for intelligent therapeutics". In: PEPPAS, N. A.; HILT, J. Z.; THOMAS, J. B. (eds.). *Nanotechnology In Therapeutics: Current Technology And Applications*. Norfolk: Horizon Scientific Press., 2007. p. 241.
55. FILIPCSEI, G.; CSETNEKI, I.; SZILAGYI, A. & ZRINYI, M. "Magnetic field-responsive smart polymer composites". *Adv. Polym. Sci.*, **206** : 137, 2007.
56. SERSHEN, S.R.& WEST, J. L. "Implantable, polymeric systems for modulated drug delivery" *Adv. Drug Deliver.*, **54** : 1225, 2002.
57. HU, S.H.; LIU, T.Y.; LIU, D.M. & CHEN, S.Y. "Controlled pulsatile drug release from a ferrogel by a high-frequency magnetic field". *Macromolecules.*, 40 (19) : 6786, 2007.
58. FRIMPONG, R.A. & HILT, J.Z. "Poly(n-isopropylacrylamide)- based hydrogel coatings on magnetite nanoparticles via atom transfer radical polymerization" *Nanotechnology.*, **19** : 175101, 2008.
59. SERSHEN, S.R.; MENSING, G.A.; HALAS, N.J.; BEEBE, D.J. & WEST, J.L. "Independent optical control of microfluidic valves formed from optomechanically responsive nanocomposite hydrogels". *Adv. Mater.*, 17 (11) : 1366, 2005.
60. KOST, J.; WOLFRUM, J. & LANGER, R. "Magnetically enhanced insulin release in diabetic rats" *J. Biomed. Mater. Res.*, **21** : 1367, 1987.
61. SABOKTAKIN, M. R.; TABATABAIE, R.; MAHARRAMOV, A. & RAMAZANOV, M. A. "Synthesis and characterization of superparamagnetic

---

chitosan-dextran sulfate hydrogels as nanocarriers for colon-specific drug delivery” *Carbohydr. Polym.*, **81** : 372, 2010.

62. LIU, T. Y.; HU, S.H.; LIU, D.M. & CHEN, S.Y. “Study on controlled drug permeation of magnetic-sensitive ferrogels: effect of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and PVA” *J. Control. Rel.*, 126 (3) : 228, 2008.

63. LU, Z.; PROUTY, M.D.; GUO, Z.; GOLUB, V.O.; KUMAR, C.S.S.R. & LVOV, Y.M. “Magnetic switch of permeability for polyelectrolyte micro capsule embedded with Co Nanoparticles”, *Langmuir*, **21** : 2042, 2005.

64. DERFUS, A.M.; MALTZAHN, G.V.; HARRIS, T.J.; DUZA, T.; VECCHIO, K.S.; RUOSLAHTI, E. & BHATIA, S.N. “Remotely triggered release from magnetic nanoparticles” *Adv. Mater.*, **19** : 3932, 2007.

65. HU, S.H.; LIU, T.Y.; LIU, D.M. & CHEN, S.Y. “Controlled pulsatile drug release from a ferrogel by a high-frequency magnetic field”. *Macromolecules*, 40 (19) : 6786, 2007.

66. BONDERER, L. J.; STUDART, A. R. & GAUCKLER, L. J. “Bioinspired design and assembly of platelet reinforced polymer films”. *Science*, **319** : 1069, 2008.

67. LIFF, S. M.; KUMAR, N. & MCKINLEY, G. H. “High-performance elastomeric nanocomposites via solvent-exchange processing”. *Nat. Mater.*, **6** : 76, 2006.

68. POLYAK, B. & FRIEDMAN, G. “Magnetic targeting for site-specific drug delivery Applications and clinical potential” *Expert Opin. Drug Deliv.*, **6** : 53, 2007.

69. ZRÍNYI, M. “Intelligent polymer gels controlled by magnetic fields”. *Colloid Polym. Sci.*, **278** : 98, 2000.

70. SHEN, F.; PONCET-LEGRAND, C.; SOMERS, S.; SLADE, A.; YIP, C. & DUFT, A. M. “Properties of a novel magnetized alginate for magnetic resonance imaging”. *Biotechnol. Bioeng.*, **83** : 282, 2005.

71. DANIEL-DA-SILVA, A. L.; TRINDADE, T.; GOODFELLOW, B. J.; COSTA, B. F. O.; CORREIA, R. N. & GIL, A. M. “In situ synthesis of magnetite nanoparticles in carrageenan gels”. *Biomacromolecules*, **8** : 2350, 2007.

72. LIN, C. C.; & METTERS, A. T. “Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling”. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **58** : 1379, 2006.

- 
73. BERTOGLIO, P.; JACOBO, S. E. & DARAIIO, M. E. "Preparation and characterization of PVA films with magnetic nanoparticles: The effect of particle loading on drug release behavior". *J. App. Polym. Sci.*, **115** : 1859, 2010.
74. HU, S. H.; LIU, T. Y.; LIU, D.-M. & CHEN, S. Y. "Nano-ferrosponges for controlled drug release". *J. Control. Rel.*, **121** : 181, 2007.
75. SABOKTAKIN, M. R., TABATABAIE, R., MAHARRAMOV, A., & RAMAZANOV, M. A. "Synthesis and characterization of superparamagnetic chitosan-dextran sulfate hydrogels as nanocarriers for colon-specific drug delivery". *Carbohy. Polym.*, **81** : 372, 2010.
76. PINNA, N.; GRANCHAROV, S.; BEATO, P.; BONVILLE, P.; ANTONIETTI, M. & NIEDERBERGER, M. "Magnetite nanocrystals: nonaqueous synthesis, characterization, and solubility". *Chem. Mater.*, **17** (11): 3044, 2005.
77. SILVA, F. B. F.; PARIS, ELAINE C.; DA COSTA, G. M. & RIBEIRO, C. "Insight into magnetite nanoparticle phase evolution in solvothermal synthesis through a simple method based on iron chloride and metallic iron". *RSC Advances*, **4** : 53265, 2014.
78. SOSKOLONE, W. A.; FREIDMAN, M. F. "Intra-periodontal pocket drug delivery systems". In: RATHBONE, M. J. (ed.). *Oral mucosal drug delivery*. New York: Marcel Dekker., 74 : 359, 1996.
79. AOUADA, F. A.; MOURA, M. R.; Silva, W. T. L.; MUNIZ, E. C. & MATTOSO, L. H. C. "Preparation and characterization of hydrophilic, spectroscopic, and kinetic properties of hydrogels based on polyacrylamide and methylcellulose polysaccharide". *J. Appl. Polym. Sci.*, **120** : 3004-3013, 2011.
80. BORTOLIN, A.; AOUADA, F. A.; LONGO, E & MATTOSO, L. H. C. "Investigação do processo de absorção de água de hidrogéis de polissacarídeo: efeito da carga iônica, presença de sais, concentrações de monômero e polissacarídeo". *Polímeros.*, **22** : 311, 2012.
81. ZHANG, H. T.; BHAT, R. & JANDT, K. D. "Temperature-sensitive PVA/PNIPAAm semi-IPN hydrogels with enhanced responsive properties.". *Acta Biomater.*, **488** : 5, 2009.
82. XUE, W.; HUGLIN, M. B.; LIAO, B. & JONES, T. G. J. "Swelling behaviour of crosslinked hydrogels based on (2-hydroxyethyl methacrylate) with a zwitterionic comonomer (1-3-sulfopropyl-2-vinyl-pyridinium-betaine)". *Eur. Polym. J.*, **915** : 43, 2007.

- 
83. REDDY, T. T.; LAVENANT, L.; LEFEBVRE, J. & RENARD, D. "Swelling behavior and controlled release of theophylline and sulfamethoxazole drugs in  $\beta$ -Lactoglobulin protein gels obtained by phase separation in water/ethanol mixture". *Biomacromolecules.*, **7** : 323, 2006.
84. SRIAMORNSAK, P.; THIRAWONG, N.; WEERAPOL, Y.; NUNTHANID, J. & SUNGTHONGJEEN, S. "Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug release behavior". *Eur. J. Pharm. Sci.*, **67**: 211, 2007.
85. HENDERSON, J. C. & HENSLEY, D. L. "Efficacy of a hydrophilic gel as a transplant aid". *Horticulture. Sci.*, 21 (4) : 991, 1986.
86. CARR, H. Y.; & PURCELL, E. M. "Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments" *Phys. Rev.*, **94** : 630, 1954.
87. MEIBOOM, S. & GILL, D. "Modified spin - echo method for measuring nuclear relaxation times" *Rev. Sci. Inst.*, **29**, 688 (1958).
88. RITGER, P. L. & PEPPAS, N. "A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-Fickian release from non-swelable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs". *J. Control. Rel.*, **5** : 23, 1987
89. TANG, C.; YE, S. & LIU, H. "Electrospinning of poly (styrene-co-maleic anhydride) (SMA) and water swelling behavior of crosslinked/hydrolyzed SMA hydrogel nanofibers". *Polymer.*, **48** : 4482, 2008.
90. HAZER, O.; SOYKAN, C. & KARTAL, S. "Synthesis and swelling behavior analysis of poly(acrylamidoxime-co-2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid) hydrogels". *J. Macromol. Sci., Part A: Pure Appl. Chem.*, **45** : 45, 2008.
91. LIU, H. Q.; ZHEN, M. & WU, R. H. "Ionic-strength- and pH-responsive poly[acrylamide-co- (maleic acid)] hydrogel nanofibers". *Macromol. Chem. Phys.*, **208** : 874, 2007.
92. AOUADA, F. A.; BORTOLIN, A.; MOURA, M. R.; LONGO, E. & MATTOSO, L. H. C. "Synthesis and characterization of novel pH sensitive paampmaa-cmc hydrogels and their applications in the controlled release of fertilizer". *Hydrogels: Synthesis, Characterization and Applications*. 1. ed. New York: Nova Science Publishers, 2012
93. BORTOLIN, A.; AOUADA, FAUZE A.; MATTOSO, LUIZ H. C. ; RIBEIRO, C. . "Nanocomposite PAAm:methylcellulose:montmorillonite hydrogel: evidence of synergistic effects for the controlled release of fertilizers". *J. Agric. Food Chem.*, 61 (31): 7431, 2013.
94. BORTOLIN, A.; SERAFIM, A. R.; AOUADA, F. A.; MATTOSO, LUIZ H. C. & RIBEIRO, C. "Macro- and micronutrient simultaneous slow release from

---

highly swellable nanocomposite hydrogels”. *J. Agric. Food Chem.*, **64** : 3133, 2016.

95. HOU, C.L.; GAO, L.; YU, H.L.; SUN, Y.Y.; YAO, J.R.; ZHAO, G.Z. & LIU, Y.Q. “Preparation of magnetic rubber with high mechanical properties by latex compounding method”. *J. Magnetism Magnetic Mater.*, **407** : 252, 2016.

96. HIGUCHI, T. “Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension”. *New York: J. Pharm. Sci.*, **50** : 874, 1961.

97. TAKAHARA, T. & KANATANI, K. “Isolation and partial amino acid sequence of bacteriocins produced by *Lactobacillus acidophilus*”. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61** (5) : 884, 1997.

98. LAGERGREN, S. “Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster Stoffe. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens*”. *Handlingar.*, **24**(4) : 1, 1898.

99. REIS, A.V.; GUILHERME, M. R.; RUBIRA, A. F. & MUNIZ, E. C. “Mathematical model for the prediction of the overall profile of in vitro solute release from polymer networks”. *J. Colloid. Interface. Sci.*, **310** : 128, 2007.

100. DZOMBAK, D. A. & MOREL, F. M. M. “Sorption of cadmium on hydrous ferric oxide at high sorbate/sorbent ratios: equilibrium, kinetics and modelling”. *J. Colloid Interface Sci.*, **112** : 588, 1986.