



**INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA**  
Escola Superior de Tecnologia e Gestão

## **Estudos Experimentais e Modelação Matemática da Libertação de Fármacos em Redes de Polímeros Interpenetrantes**

**Daniela Santos Oliveira**

Relatório Final de Projeto/Estágio apresentado na  
**Escola Superior de Tecnologia e Gestão**  
**Instituto Politécnico de Bragança**

Para obtenção do grau de Mestre em  
**Tecnologia Biomédica**

**Bragança, dezembro de 2014**



# **Estudos Experimentais e Modelação Matemática da Libertação de Fármaco em Redes de Polímeros Interpenetrantes**

**Daniela Santos Oliveira**

Relatório Final de Projeto/Estágio apresentado na  
**Escola Superior de Tecnologia e Gestão**  
**Instituto Politécnico de Bragança**

Para obtenção do grau de Mestre em  
**Tecnologia Biomédica**

Este trabalho foi efetuado sob orientação de:

**Professor Doutor Rolando Carlos Pereira Simões Dias**

**Bragança, dezembro de 2014**



# Agradecimentos

Em primeiro lugar, ao meu Orientador Professor Doutor Rolando Dias, pela oportunidade concedida, conhecimento científico, apoio, disponibilidade, paciência e motivação que me transmitiu ao longo da realização deste trabalho.

À Doutora Porkodi Kadhivel pela ajuda, apoio e orientação prestada no laboratório.

É agradecido o financiamento desta investigação pela FCT e FEDER, nomeadamente no âmbito dos programas COMPETE (Project PEst-C/EQB/LA0020/2013), QREN/ON2/Project NORTE-07-0162-FEDER-000050 e QREN/ON2/Project NORTE-07-0124-FEDER- 0000014 - Polymer Reaction Engineering.

Agradeço também a todos os colegas do laboratório pela ajuda, apoio, paciência e amizade.

Finalmente, um agradecimento especial aos meus pais, aos meus irmãos e ao meu namorado pelo incentivo, carinho, amor e paciência que tiveram comigo durante este tempo.

A todos, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Com admiração e gratidão!



*“A persistência é o menor caminho do êxito.”*

Charles Chaplin



# Resumo

As redes de polímeros interpenetrantes (IPN) têm sido consideradas nos últimos anos como forma de melhorar as propriedades de materiais convencionais. Aumento do desempenho mecânico e incorporação simultânea de polímeros naturais e sintéticos no mesmo produto são exemplos de vantagens associadas aos IPNs. Neste trabalho foram explorados IPNs baseados em redes de ácido acrílico (AA) e N-isopropilacrilamida (NIPA) como forma de obtenção de materiais com sensibilidade simultânea ao pH (decorrente da rede de AA) e à temperatura (decorrente da rede de NIPA). Os hidrogéis resultantes apresentam potenciais aplicações em biomedicina e na indústria farmacêutica, nomeadamente na libertação controlada de fármacos. Os IPNs de AA/NIPA foram sintetizados através de polimerização radicalar clássica (FRP), tendo sido consideradas diferentes estratégias de interpenetração das redes de base (variação do solvente, concentrações, temperatura, iniciador, etc). Após purificação, os IPNs foram caracterizados em termos da variação da sua razão de inchamento (SR) quando colocados em soluções aquosas (procurando recriar meios biológicos) com diferentes valores de pH e temperatura. Os materiais sintetizados foram também caracterizados em termos da sua capacidade de adsorção/dessorção (retenção/libertação) de moléculas alvo importantes em biomedicina (ex. 5-fluoruracilo usado no tratamento do cancro ou 4-aminopiridina, potencialmente útil no tratamento da esclerose múltipla). Em concreto, foi quantificada a adsorção dos fármacos nos IPNs em modo fechado (*batch*) e também em modo contínuo. Para esse efeito, os materiais foram empacotados em colunas de GPC e submetidos a testes de análise frontal usando soluções aquosas contendo os fármacos. Adicionalmente, os IPNs foram ainda sujeitos a estudos de extração em fase sólida (SPE) envolvendo também soluções aquosas dos mesmos fármacos. Os resultados experimentais obtidos foram usados em estudos de modelação matemática, nomeadamente para a determinação de isotérmicas de adsorção (Langmuir, Freundlich, etc) e no desenvolvimento de ferramentas de cálculo auxiliaadoras da interpretação dos resultados obtidos por análise frontal (quantificação da capacidade de adsorção). Com a investigação realizada mostra-se que a interpenetração de redes pode ser considerada na obtenção de hidrogéis com sensibilidade combinada a estímulos (ex. pH/temperatura) e que os materiais resultantes apresentam propriedades úteis em biomedicina, nomeadamente na retenção/libertação de fármacos quando selecionadas combinações de elevada afinidade entre o IPN e a molécula alvo.

**Palavras-chave:** Redes de Polímeros Interpenetrantes, Hidrogéis, Adsorção/Dessorção, Fármacos.



## Abstract

Over the past few years the interpenetrating polymer networks (IPN) have been considered to be an effective way to improve the properties of conventional materials. The increase in the mechanical performance and a simultaneous incorporation of natural and synthetic polymers in the same product are some of the benefits associated to IPN. This work sets out to explore IPNs based on acrylic acid (AA) and N-isopropylacrylamide (NIPA) networks as a route to obtain materials simultaneously sensitive to pH (resulting from the AA network) and temperature (resulting from the NIPA network). The resulting hydrogels present potential applications in biomedical and pharmaceutical industry, particularly in the controlled drug release. The AA/NIPA IPNs were synthesized through classic free-radical polymerization (FRP), having been considered different strategies of interpenetration of base networks (variation in solvent, concentration, temperature, initiator, etc). After purification, the IPNs were categorised in terms of variation in their swelling ratio (SR) when placed in aqueous solutions (seeking to recreate biological environments) with different values of pH and temperature. The synthesized materials were also categorized in terms of their capacity to adsorb/desorb (retention/release) important biomedical target molecules (eg. 5-fluorouracil used in cancer treatment or 4-aminopyridine, potentially useful in the multiple sclerosis treatment). In a particular way, it was quantified the drug absorption in the IPNs in a closed mode (batch) and in a continuous mode. For this purpose, the materials were packed into GPC columns and subjected to frontal analysis tests using aqueous solutions containing the drugs. Additionally, the IPNs were also subject to solid phase extraction (SPE) studies, involving also aqueous solutions of the same drugs. The experimental results obtained were used in mathematical modelling studies, namely for the determination of adsorption isotherms (Langmuir, Freundlich, etc) and in the development of calculation tools to assist in the interpretation of the results obtained from frontal analysis (adsorption capacity measurement). This research demonstrates that the interpenetrating networks can be considered as a route to obtain stimulus-sensitive hydrogels (pH/temperature) and that the resulting materials exhibit properties useful to biomedicine, namely in the retention/release of drugs when high affinity combinations between the target molecule and IPN were selected.

**Keywords:** Interpenetrating Polymer Network, Hydrogels, Adsorption/Desorption, Drugs.



# Índice

Índice de Figuras .....	xv
Índice de Tabelas .....	xxvii
Índice de Anexos .....	xxix
Lista de Abreviaturas .....	xxxvii
Capítulo 1 - Introdução .....	1
1.1. Motivação .....	1
1.2. Objetivos .....	2
1.3. Disposição do Trabalho .....	3
Capítulo 2 - Fundamentação Teórica .....	5
2.1. Introdução .....	5
2.2. Hidrogéis .....	5
2.3. Redes Poliméricas Interpenetrantes (IPNs) .....	7
2.3.1. Classificação dos IPNs .....	9
2.3.2. Propriedades dos IPNs .....	10
2.3.3. Aplicações dos IPNs .....	11
2.4. Fármacos .....	12
2.4.1. 4-Aminopiridina .....	13
2.4.2. 5-Fluoruracilo .....	14
2.4.3. Cafeína .....	14

2.4.4. Ibuprofeno .....	15
2.5. Reações de Polimerização .....	15
2.5.1. Polimerização Radicalar Clássica (FRP) .....	16
2.6. Estudos Anteriores na Libertação de Fármacos através de IPNs.....	18
Capítulo 3 - Síntese de Redes Poliméricas Interpenetrantes .....	21
3.1. Introdução .....	21
3.2. Materiais .....	21
3.3. Síntese de Redes Poliméricas Interpenetrantes.....	21
3.3.1. Procedimento Experimental .....	25
3.4. Caracterização da Razão de Inchamento das Redes Convencionais Obtidas .....	28
3.5. Considerações Finais .....	29
Capítulo 4 - Testes de Caracterização dos IPNs.....	31
4.1. Introdução .....	31
4.2. Procedimento Experimental.....	31
4.2.1. Sensibilidade dos IPNs à Variação da Temperatura e do pH.....	32
4.3. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	35
4.3.1. Procedimento Experimental .....	36
4.3.2. Análise dos Espectros Obtidos.....	36
4.4. Considerações Finais .....	40
Capítulo 5 - Determinação de Isotérmicas de Adsorção de Fármacos em IPNs considerando Operação <i>Batch</i> (Sistema Fechado) .....	43
5.1. Introdução .....	43

5.2. Conceitos Teóricos sobre Isotérmicas de Adsorção .....	43
5.2.1. Equilíbrio de Adsorção e Isotérmicas mais comuns .....	44
5.2.2. Medição Experimental de Isotérmicas <i>Batch</i> e Linhas de Operação .....	46
5.3. Testes Realizados.....	48
5.3.1. Componente Experimental.....	49
5.3.2. Resultados Obtidos e Discussão.....	51
5.4. Modelação Matemática para a Determinação das Isotérmicas de Adsorção .....	58
5.4.1. Aplicação do Algoritmo .....	59
5.4.2. Resultados Obtidos e Discussão.....	60
5.5. Considerações Finais .....	62
Capítulo 6 - Testes de Adsorção (Saturação) e Dessorção (Libertação) de Fármacos na Operação em Contínuo .....	65
6.1. Introdução .....	65
6.2. Adsorção e Dessorção de Fármacos na Operação em Contínuo – Conceitos Gerais .....	65
6.2.1. Testes com um Hidrogel Aniónico baseado em Ácido Acrílico.....	66
6.3. Fundamentos Teóricos sobre a Quantificação da Adsorção por Análise Frontal	70
6.4. Adsorção por SPE – Conceitos Genéricos.....	73
6.5. Testes Realizados.....	74
6.5.1. Experiências Realizadas por SPE.....	75
6.5.2. Experiências Realizadas por Análise Frontal.....	77
6.6. Resultados Obtidos e Discussão .....	80

6.6.1. Resultados Obtidos por SPE .....	81
6.6.2. Resultados Obtidos por Análise Frontal .....	84
6.7. Considerações Finais .....	93
Capítulo 7 - Conclusão e Trabalhos Futuros .....	95
Capítulo 8 - Referências Bibliográficas .....	101
Anexos .....	107

# Índice de Figuras

Figura 2.1 – Ilustração das estruturas dos hidrogéis.....	7
Figura 2.2 – Representação de uma rede polimérica interpenetrante (IPN).....	8
Figura 2.3 – Representação esquemática dos IPNs classificados segundo a estrutura: a) IPN completo; b) Semi-IPN (— Monómero 1; - - - Reticulante 1; — Monómero 2; .... Reticulante 2).....	9
Figura 2.4 – Estrutura física dos tipos de IPNs classificados segundo o método de preparação: a) IPN sequencial; b) IPN simultâneo; c) Semi-IPN (⌚ Rede A; ⌚ Rede B; ● e ● pontos de reticulação; M=monómero; I=iniciador; X=agente reticulante e P=polimerização).....	10
Figura 2.5 – Estrutura química da 4-aminopiridina.....	13
Figura 2.6 – Estrutura química da 3-aminopiridina.....	13
Figura 2.7 – Estrutura química do 5-fluoruracilo.....	14
Figura 2.8 – Estrutura química da cafeína.....	15
Figura 2.9 – Estrutura química do ibuprofeno.....	15
Figura 2.10 – Etapa de iniciação: a) Dissociação do iniciador; b) Iniciação do monómero. Nesta ilustração utiliza-se-se AIBN e AA como iniciador e monómero, respetivamente.....	16
Figura 2.11 – Etapa de propagação do monómero. Nesta ilustração utiliza-se AA como exemplo.....	16
Figura 2.12 – Etapa de reticulação com dupla pendente do agente reticulante. O sistema AA/MBA <sub>m</sub> é aqui utilizado como exemplo.....	17
Figura 2.13 – Etapa de terminação. a) Terminação por combinação; b) Terminação por dismutação. Unidades terminais de AA são aqui consideradas como exemplo.....	17

Figura 3.1 – Ilustração das etapas principais na síntese de uma rede de polímero interpenetrante. Foram também consideradas polimerizações envolvendo DMAEMA. 26

Figura 3.2 – Ilustração fotográfica do procedimento experimental da síntese da primeira rede polimérica. a) Início da reação para formar a primeira rede polimérica (hidrogel); b) Hidrogel obtido após 24 horas do início da reação; c) Lavagem do hidrogel para eliminar eventuais resíduos, restos de monómeros e agente reticulante que não reagiram; d) Hidrogel filtrado para proceder à secagem, para utilização posterior..... 27

Figura 3.3 – Ilustração fotográfica do procedimento experimental da síntese da rede polimérica interpenetrante. a) Absorção da solução aquosa (constituída por monómero, agente reticulante e iniciador) para a formação da segunda rede no interior da primeira rede; b) Polimerização da segunda rede no interior da primeira rede sintetizada numa fase antecedente; c) Rede de polímero interpenetrante obtida após a polimerização; d) Lavagem do hidrogel para eliminar eventuais resíduos, restos de monómeros e agente reticulante que não reagiram aquando a polimerização..... 28

Figura 3.4 – Exemplos de materiais obtidos na síntese de redes de polímeros interpenetrantes. a) Rede de polímero interpenetrante (IPN 4) baseado em AA e NIPA; b) Rede de polímero semi-interpenetrante baseada em AA e NIPA (SIPN 1)..... 28

Figura 4.1 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da primeira rede polimérica (rede convencional AA 1). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C..... 33

Figura 4.2 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da primeira rede polimérica (rede convencional AA 2). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C..... 33

Figura 4.3 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da primeira rede polimérica (rede convencional NIPA). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C..... 33

Figura 4.4 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 1). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. .... 34

Figura 4.5 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 2). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. ....	34
Figura 4.6 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 3). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. ....	34
Figura 4.7 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 4). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. ....	34
Figura 4.8 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 5). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. ....	34
Figura 4.9 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 6). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. ....	34
Figura 4.10 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 7). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. ....	35
Figura 4.11 – Ilustração esquemática do procedimento desenvolvido para a obtenção dos espectros. a) Amostra do material que se pretende analisar e uma pequena quantidade de KBr (solvente inerte, não absorve radiação infravermelha). Este é utilizado para a realização da mistura assim facilitar a obtenção de uma amostra homogénea; b) Bomba de vácuo é utilizada para reduzir a pressão entre os dois cilindros metálicos onde se encontra a mistura homogénea. A prensa é utilizada para criar um peso de pelo menos de 8 toneladas durante 3 minutos sobre os dois cilindros metálicos para formar a pastilha que terá um aspeto vítreo; c) Suporte para colocar a pastilha, posteriormente será colocado na câmara do espectrómetro; d) Equipamento para a obtenção dos espectros. ....	36
Figura 4.12 – Espectro FTIR das duas primeiras redes poliméricas, uma baseada em ácido acrílico e outra baseada em NIPA. No espectro AA é possível visualizar um pico	

na banda de absorção (1770-1650) que corresponde à ligação C=O, e é também observado um pico mais acentuado na região de absorção (3400-2400) corresponde à ligação O-H. Relativamente ao espectro da NIPA também é possível observar os picos característicos presentes nas bandas de absorção correspondentes à ligação C=O e à ligação N-H. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ . ..... 37

Figura 4.13 – Comparação do espectro FTIR do IPN 1 (NIPA+NIPA) com a rede convencional (NIPA). As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas) presentes nas amostras. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ . ..... 38

Figura 4.14 – Comparação do espectro FTIR do IPN 2 e IPN 3 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes nas amostras. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ . ..... 39

Figura 4.15 – Comparação do espectro FTIR do IPN 4 e IPN 5 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes nas amostras. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ . ..... 39

Figura 4.16 – Comparação do espectro FTIR do IPN 6 e IPN 7 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes nas amostras. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ . ..... 40

Figura 5.1 – Representação gráfica do processo de adsorção *batch* considerando a linha de operação e a linha de equilíbrio. Representa-se também o ponto de partida do processo de adsorção ( $C = C_0, Q = 0$ ) e o ponto de equilíbrio ( $C = C_e, Q = Q_e$ ). ... 47

Figura 5.2 – Representação esquemática da determinação experimental de uma isotérmica de adsorção. Neste caso consideram-se diferentes concentrações iniciais da solução líquida, mantendo-se constante a quantidade de adsorvente (hidrogel) utilizado ( $mH$ ) e volume de solução ( $VL$ ). Geram-se assim as linhas de operação com o mesmo declive ( $-VL/mH$ ) que devem possibilitar a determinação de diferentes pontos de equilíbrio (interceções entre linhas de operação e linhas de equilíbrio)..... 47

Figura 5.3 – Representação esquemática da determinação experimental de adsorção. Neste caso consideram-se duas concentrações iniciais da solução líquida e faz-se, em cada caso, variar a quantidade de adsorvente (hidrogel) utilizando ( $mH$ ), mantendo constante o volume de solução ( $VL$ ). Geram-se assim linhas de operação com diferentes declives ( $-VL/mH$ ) que devem possibilitar a determinação de diferentes pontos de equilíbrio (interceções entre linhas de operação e linhas de equilíbrio)..... 48

Figura 5.4 – Teste de adsorção em modo fechado (*batch*) de 3-aminopiridina em rede polimérica convencional baseada em ácido acrílico (CPN 3). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco. .... 51

Figura 5.5 – Teste de adsorção em modo fechado (*batch*) da cafeína em redes poliméricas convencionais, sendo uma baseada em ácido acrílico (CPN 3) e a outra baseada em NIPA+MAA (CPN 2). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco..... 52

Figura 5.6 – Teste de adsorção em modo fechado (*batch*) de 4-aminopiridina em rede polimérica interpenetrante baseada em NIPA, sendo a primeira rede polimérica de NIPA e a segunda rede polimérica também de NIPA (IPN 1). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 40 °C e cerca de 50 mg de massa de hidrogel seco. .... 52

Figura 5.7 – Teste de adsorção em modo fechado ( <i>batch</i> ) de 3-aminopiridina e 5-fluoruracilo em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em ácido acrílico e NIPA, sendo a primeira rede polimérica de ácido acrílico e a segunda rede polimérica de NIPA (IPN 6). Condições do sistema <i>batch</i> : tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 25 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco. ....	53
Figura 5.8 – Ilustração esquemática do procedimento desenvolvido para o ajuste dos dados experimentais das isotérmicas de adsorção a diferentes modelos (a função de Langmuir é aqui considerada como exemplo).....	59
Figura 5.9 – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas convencionais baseadas em AA (CPN 3). Condições do sistema <i>batch</i> : tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco. ....	60
Figura 5.10 – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA (CPN 2). Condições do sistema <i>batch</i> : tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco. ....	61
Figura 5.11 – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 4-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA+NIPA (IPN 1). Condições do sistema <i>batch</i> : tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 40 °C e cerca de 50 mg de massa de hidrogel seco. ....	62
Figura 5.12 – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições do sistema <i>batch</i> : tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 25 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco. ....	62
Figura 6.1 – Ilustração fotográfica de várias colunas de enchimento utilizadas em estudos experimentais de adsorção e liberação de fármacos em hidrogéis considerando a operação em modo contínuo. ....	65
Figura 6.2 – Representação esquemática simplificada do sistema de GPC utilizado neste trabalho para estudar experimentalmente a adsorção e liberação de fármacos em hidrogéis considerando a operação em modo contínuo. ....	66

Figura 6.3 - Sinal de absorção registado no detetor UV em resultado da injeção no sistema de GPC de uma solução aquosa de 5-fluoruracilo com concentração 0,1 mM. Apresenta-se aqui o sinal UV normalizado, que é obtido através da divisão do sinal efetivo pelo valor máximo observado. Este teste foi realizado considerando um caudal de eluente de 0,1 mL/min e com monitorização da absorção UV a 265 nm. A comparação dos picos observados na presença e na ausência de coluna com hidrogel permite concluir que há uma afinidade efetiva entre o fármaco e a rede de polímero considerado (note-se a elevada retenção do fármaco no sistema quando é usada coluna com hidrogel)..... 67

Figura 6.4 – Representação esquemática do procedimento experimental associado à saturação de um hidrogel com um fármaco considerando a operação em modo contínuo. Para esse efeito, o sistema de GPC com a coluna de hidrogel é alimentado com água pura (concentração de fármaco  $C = 0$ ) durante um período de tempo suficientemente longo até se obter um comportamento estável nos detetores (concentração nula de fármaco). Num dado instante ( $t = 0$ ) faz-se a alimentação do sistema com uma solução aquosa contendo o fármaco selecionado (concentração de fármaco  $C = C_0$ ), provocando desta forma uma variação em degrau na concentração de fármaco à entrada da coluna. Após algum tempo de operação é detetada (ex. usando UV) a presença de fármaco na corrente de saída da coluna. Se este processo for realizado durante um período de tempo suficientemente longo, o hidrogel presente na coluna atingirá a saturação nesse fármaco (torna-se incapaz de adsorver quantidades adicionais dessa molécula) e a concentração à saída da coluna passa a ser constante [54]..... 69

Figura 6.5 – Representação esquemática do procedimento experimental associado à libertação de um fármaco de um hidrogel considerando a operação em modo contínuo. Partindo com o hidrogel no estado de saturação (ver Figura 6.4), num dado instante, a alimentação contendo fármaco ( $C = C_0$ ) é substituída pela alimentação com água pura ( $C = 0$ ). Provoca-se desta forma uma variação em degrau negativo na concentração de fármaco à entrada da coluna. A passagem de água pura no hidrogel provoca a dessorção (libertação) do fármaco que ao fim de um tempo de operação suficientemente longo de operação o deverá libertar na totalidade. Após o fim do processo de libertação do fármaco, nos detetores é detetada a presença de água pura [54]. ..... 69

Figura 6.6 – Representação esquemática de diferentes fases num processo de adsorção líquido/sólido numa coluna a operar em contínuo. Na Fase I a coluna ainda não foi totalmente percorrida pelo soluto. Há sítios de adsorção ocupados e outros livres sendo nula a concentração de soluto à saída da coluna. Na Fase II, a coluna já foi totalmente percorrida pelo soluto havendo no entanto ainda sítios de adsorção livres. Na saída da coluna é observado um valor de concentração inferior ao de entrada. Na Fase III, todos os sítios de adsorção foram ocupados sendo a concentração observada à saída da coluna igual à de entrada (saturação) [62-64]. ..... 70

Figura 6.7 – Representação esquemática da curva de “*breakthrough*” ideal (sem saída de soluto antes da saturação) e de uma curva de “*breakthrough*” real (inclui Fases I, II e III com saída de soluto da coluna antes da saturação do adsorvente) [54,62-64]. ..... 71

Figura 6.8 – Representação esquemática do processo de adsorção entre o início da curva de “*breakthrough*” (volume de eluição =  $V_{BR0}$ ) e a saturação (volume de eluição =  $V_f$ ). Este período corresponde à Fase II. Neste período, a quantidade total de soluto introduzida no sistema é  $C_0 \times (V_f - V_{BR0})$  que corresponde à área  $B_1 + B_2$ . A área  $B_1$  representa a quantidade de soluto observada na fase móvel e, por diferença,  $B_2$  representa a quantidade de soluto que foi adsorvida no sólido nesse período [54,62-64]. ..... 72

Figura 6.9 – Representação esquemática do cálculo do Volume Equivalente ( $V_{eq}$ ) para quantificação da quantidade de soluto adsorvida. O objetivo é calcular a área  $B_2$  representada na Figura 6.8. De facto, comparando as Figuras 6.8 e 6.9, a área  $B_2$  pode ser substituída pela área do retângulo  $C_0 \times (V_{eq} - V_{BR0})$  desde que se garanta que as áreas  $C_1$  e  $C_2$  sejam iguais. Calcular o volume equivalente ( $V_{eq}$ ) consiste portanto em encontrar o volume de eluição para o qual  $C_1 = C_2$  [54,62-64]. ..... 72

Figura 6.10 – Representação geral da quantificação do processo de adsorção numa coluna a operar em contínuo incluindo o volume de vazio (quantifica o soluto retido na fase móvel no interior da coluna ou nos capilares de transporte), o soluto adsorvido na Fase I, que corresponde à área do retângulo  $C_0 \times (V_{BR0} - V_0)$  e também a quantidade de soluto adsorvida na Fase II, que corresponde à área do retângulo  $C_0 \times (V_{eq} - V_{BR0})$ . A quantidade total de soluto adsorvida na fase estacionária é portanto:  $C_0 \times (V_{BR0} - V_0) + C_0 \times (V_{eq} - V_{BR0}) = C_0 \times (V_{eq} - V_0)$  [54,62-64]. ..... 72

Figura 6.11 – Representação de uma coluna de extração em fase sólida [36].	73
Figura 6.12 – Representação esquemática das 4 fases da extração em fase sólida. a) Acondicionamento; b) Adsorção; c) Lavagem; d) Eluição [36].	74
Figura 6.13 – Etapas principais da realização de um teste pelo equipamento SPE. a) Aquecimento prévio das soluções a 40 °C; b) O acondicionamento tem por objetivo homogeneizar a fase estacionária (hidrogel) para a etapa seguinte; c) Adsorção, colocação da solução de fármaco em cada uma das colunas e recolha da solução aquosa através da ponta de recolha com o auxílio da bomba de vácuo.	77
Figura 6.14 – Colunas de enchimento utilizadas nos testes de análise frontal. a) Coluna utilizada nos testes de injeção, adsorção e dessorção de fármacos nos CPNs; b) Coluna utilizada nos testes de injeção, adsorção e dessorção de fármacos nos IPNs.	78
Figura 6.15 – Ilustração do empacotamento de uma coluna. a) Estrutura da coluna; b) Coluna com o hidrogel já empacotado.	78
Figura 6.16 – Comparação da fração de fármaco adsorvida em diferentes hidrogéis colocados em soluções aquosas a pH neutro (~7) à temperatura de 20 °C.	81
Figura 6.17 – Comparação da fração de fármaco adsorvida em diferentes hidrogéis colocados em soluções aquosas a pH ácido (2,94) à temperatura de 20 °C.	82
Figura 6.18 – Comparação da fração de fármaco adsorvida em diferentes hidrogéis colocados em soluções aquosas a pH alcalino (9,75) à temperatura de 20 °C.	82
Figura 6.19 – Comparação da fração de fármaco adsorvida em diferentes hidrogéis colocados em soluções aquosas a pH neutro (~7) à temperatura de 40 °C.	82
Figura 6.20 – Fração de fármaco (3-APy) retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução. Condições de teste: pH neutro (~7) e temperatura de 25 °C.	83
Figura 6.21 – Fração de fármaco (3-APy) retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução. Condições de teste: pH ácido (1,7) e temperatura de 25 °C.	83

Figura 6.22 – Fração de fármaco (3-APy) retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução. Condições de teste: pH alcalino (10) e temperatura de 25 °C.....	84
Figura 6.23 – Fração de fármaco (3-APy) retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução. Condições de teste: pH neutro (~7) e temperatura de 40 °C.....	84
Figura 6.24 – Perfil de injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA. ....	85
Figura 6.25 – Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA. ....	85
Figura 6.26 – Perfil de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA. ....	86
Figura 6.27 – Perfil de adsorção de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA. ....	86
Figura 6.28 – Perfil de adsorção, dessorção e injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.....	86
Figura 6.29 – Perfil de injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.....	87
Figura 6.30 – Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.....	87
Figura 6.31 – Perfil de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.....	87
Figura 6.32 – Perfil de adsorção e dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.....	87
Figura 6.33 – Perfil de injeção, adsorção e dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.....	87

Figura 6.34 – Perfil de adsorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA. Condições de teste: pH 7 e temperatura de 40 °C.....	88
Figura 6.35 – Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA. Condições de teste: pH 7 e temperatura de 40 °C.....	88
Figura 6.36 – Perfil de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA. Condições de teste: pH 10 e temperatura de 40 °C.....	88
Figura 6.37 – Perfis observados para os testes de saturação de 5-FU e 3-APy em redes de polímeros interpenetrantes baseadas em AA+NIPA sujeitas a diferentes condições envolventes.....	89
Figura 6.38 – Perfis observados para os testes de libertação de 5-FU e 3-APy em redes de polímeros interpenetrantes baseadas em AA+NIPA sujeitas a diferentes condições envolventes.....	89



# Índice de Tabelas

Tabela 2.1 – Classificação dos hidrogéis [8,10].	6
Tabela 3.1 – Condições experimentais utilizadas na síntese de redes de polímeros interpenetrantes (IPNs).	23
Tabela 3.2 – Condições experimentais utilizadas na síntese de redes de polímeros semi interpenetrantes (SIPNs).	24
Tabela 3.3 – Condições experimentais utilizadas na síntese de redes de polímeros convencionais (CPNs).	24
Tabela 3.4 – Razão de inchamento da primeira rede polimérica (AA 1) em diferentes solventes puros.	29
Tabela 3.5 – Razão de inchamento da primeira rede polimérica (AA 1) em diferentes solventes (misturas 50/50).	29
Tabela 3.6 – Razão de inchamento da primeira rede polimérica (AA 1) em diferentes solventes (misturas 25/75).	29
Tabela 3.7 – Razão de inchamento da primeira rede polimérica (AA 1) em diferentes solventes (misturas 10/90).	29
Tabela 4.1 – Região/Banda de absorção dos grupos funcionais presentes nos compostos utilizados [52].	37
Tabela 5.1 – Descrição dos estudos de adsorção realizados com diferentes hidrogéis convencionais e diferentes fármacos.	54
Tabela 5.2 – Descrição dos estudos de adsorção realizados com diferentes IPNs e diferentes fármacos.	56
Tabela 6.1 – Resumo dos resultados obtidos com a análise de diferentes combinações entre redes de polímeros convencionais e fármacos (testes de saturação).	90

Tabela 6.2 – Resumo dos resultados obtidos com a análise frontal de diferentes combinações entre redes de polímeros convencionais e fármacos (testes de liberação). .....	91
Tabela 6.3 – Resumo dos resultados obtidos com a análise frontal de diferentes combinações entre IPNs e fármacos (testes de saturação). .....	92
Tabela 6.4 – Resumo dos resultados obtidos com a análise frontal de diferentes combinações entre IPNs e fármacos (testes de liberação).....	92

# Índice de Anexos

Anexo 1 – Propriedades físico químicas dos fármacos utilizados neste trabalho. ....	i
Anexo 2 – Propriedades físico químicas dos monómeros e reticulantes utilizados neste trabalho. ....	ii
Anexo 3 – Propriedades físico químicas dos iniciadores e catalisadores utilizados neste trabalho. ....	iii
Anexo 4 – Resultados obtidos para a sensibilidade dos IPNs à variação da Temperatura e do pH. ....	iv
Anexo 5 – Resultados obtidos para a sensibilidade dos SIPNs à variação da Temperatura e do pH. ....	v
Anexo 6 – Resultados obtidos para a sensibilidade das 1 <sup>as</sup> redes poliméricas convencionais à variação da Temperatura e do pH. ....	v
Anexo 7 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica semi-interpenetrante (SIPN 1). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. ....	vi
Anexo 8 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica semi-interpenetrante (SIPN 2). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. ....	vii
Anexo 9 – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica semi-interpenetrante (SIPN 3). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C. ....	vii
Anexo 10 – Espectro de infravermelho (FTIR) do monómero NIPA (amostra pura) [53]. .....	viii
Anexo 11 – Espectro de infravermelho (FTIR) do monómero AA (amostra pura) [53]. .....	viii
Anexo 12 – Comparação do espectro FTIR do SIPN 1 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas	

correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes na amostra. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença da água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ ..... ix

Anexo 13 – Comparação do espectro FTIR do SIPN 2 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes na amostra. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença da água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ ..... ix

Anexo 14 – Comparação do espectro FTIR do SIPN 3 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes na amostra. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença da água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ ..... x

Anexo 15 – Quantidade de CPN 3 e concentrações de 3-APy de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 20 °C. .... xi

Anexo 16 – Quantidade de CPN 3 e concentrações de CAF de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 20 °C. .... xii

Anexo 17 – Quantidade de CPN 2 e concentrações de CAF de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 20 °C. .... xii

Anexo 18 – Quantidade de IPN 1 e concentrações de 4-APy de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 40 °C. .... xiii

Anexo 19 – Quantidade de IPN 6 e concentrações de 5-FU de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 25 °C..... xiv

Anexo 20 – Quantidade de IPN 6 e concentrações de 3-APy de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 25 °C. .... xv

Anexo 21 – Curvas de calibração da Absorvância vs. Concentração inicial dos testes realizados em modo fechado ( <i>batch</i> ) com as redes poliméricas convencionais.....	xvi
Anexo 22 – Curvas de calibração da Absorvância vs. Concentração inicial dos testes realizados em modo fechado ( <i>batch</i> ) com as redes poliméricas interpenetrantes.....	xvii
Anexo 23 – Parâmetros das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas convencionais baseadas em AA (CPN 3). As unidades dos parâmetros das isotérmicas são definidas consoante as unidades de $Q_e$ (mg/g) e $C_e$ (mM).....	xviii
Anexo 24 – Parâmetros das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA (CPN 2). As unidades dos parâmetros das isotérmicas são definidas consoante as unidades de $Q_e$ (mg/g) e $C_e$ (mM).....	xviii
Anexo 25 – Parâmetros das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 4-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA+NIPA (IPN 1). As unidades dos parâmetros das isotérmicas são definidas consoante as unidades de $Q_e$ (mg/g) e $C_e$ (mM).....	xix
Anexo 26 – Parâmetros das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET a para adsorção de 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). As unidades dos parâmetros das isotérmicas são definidas consoante as unidades de $Q_e$ (mg/g) e $C_e$ (mM).....	xix
Anexo 27 – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas convencionais baseadas em AA (CPN 3). Condições do sistema <i>batch</i> : tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco. ....	xx
Anexo 28 – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA (CPN 2). Condições do sistema <i>batch</i> : tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco. ....	xxi

Anexo 29 – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 4-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA+NIPA (IPN 1). Condições do sistema <i>batch</i> : tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 40 °C e cerca de 50 mg de massa de hidrogel seco. ....	xxii
Anexo 30 – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições do sistema <i>batch</i> : tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 25 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco. ....	xxiii
Anexo 31 – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (primeiro método). Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH neutro e concentração de fármaco de 2 mM. ....	xxiv
Anexo 32 – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (primeiro método). Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH ácido e concentração de fármaco de 2 mM. ....	xxv
Anexo 33 – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (primeiro método). Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH alcalino e concentração de fármaco de 2 mM. ....	xxv
Anexo 34 – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (primeiro método). Condições de teste: temperatura de 40 °C, pH neutro e concentração de fármaco de 2 mM. ....	xxvi
Anexo 35 – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (segundo método). Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH neutro e concentração de fármaco de 0,1 mM. ....	xxvii
Anexo 36 – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (segundo método). Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH ácido e concentração de fármaco de 0,1 mM. ....	xxvii
Anexo 37 – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (segundo método). Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH alcalino e concentração de fármaco de 0,1 mM. ....	xxviii

Anexo 38 – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (segundo método). Condições de teste: temperatura de 40 °C, pH neutro e concentração de fármaco de 0,1 mM.....	xxviii
Anexo 39 – Resultados obtidos por SPE (Primeiro Método). Testes de adsorção, liberação e razão de inchamento utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA e AA. Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH neutro (~7) e concentração de fármaco de 2 mM.....	xxix
Anexo 40 – Resultados obtidos por SPE (Primeiro Método). Testes de adsorção, liberação e razão de inchamento utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA e AA. Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH ácido (2,94) e concentração de fármaco de 2 mM.....	xxx
Anexo 41 – Resultados obtidos por SPE (Primeiro Método). Testes de adsorção, liberação e razão de inchamento utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA e AA. Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH alcalino (9,75) e concentração de fármaco de 2 mM.....	xxxii
Anexo 42 – Resultados obtidos por SPE (Primeiro Método). Testes de adsorção, liberação e razão de inchamento utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA e AA. Condições de teste: temperatura de 40 °C, pH neutro (~7) e concentração de fármaco de 2 mM.....	xxxiii
Anexo 43 – Resultados obtidos por SPE (Segundo Método). Testes de adsorção e liberação utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA, AA e DMAEMA. Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH neutro (7,54) e concentração de fármaco de 0,1 mM.....	xxxiiii
Anexo 44 – Resultados obtidos por SPE (Segundo Método). Testes de adsorção e liberação utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA, AA e DMAEMA. Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH ácido (1,7) e concentração de fármaco de 0,1 mM.....	xxxv
Anexo 45 – Resultados obtidos por SPE (Segundo Método). Testes de adsorção e liberação utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas	

interpenetrantes baseadas em NIPA, AA e DMAEMA. Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH alcalino (10) e concentração de fármaco de 0,1 mM.....	xxxvii
Anexo 46 – Resultados obtidos por SPE (Segundo Método). Testes de adsorção e liberação utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA, AA e DMAEMA. Condições de teste: temperatura de 40 °C, pH neutro (7,54) e concentração de fármaco de 0,1 mM. ....	xxxix
Anexo 47 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas convencionais baseadas em AA. Condições da Análise Frontal: $C_0=0,5$ mM, $Q=0,15$ mL/min e uma coluna contendo 15,7 mg de hidrogel seco. ....	xli
Anexo 48 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a THY em redes poliméricas convencionais baseadas em AA. Condições da Análise Frontal: $C_0=0,1$ mM, $Q=0,15$ mL/min e uma coluna contendo 15,7 mg de hidrogel seco. ....	xlii
Anexo 49 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o UR em redes poliméricas convencionais baseadas em AA. Condições da Análise Frontal: $C_0=0,1$ mM, $Q=0,15$ mL/min e uma coluna contendo 15,7 mg de hidrogel seco. ....	xliii
Anexo 50 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas convencionais baseadas em DMAEMA. Condições da Análise Frontal: $C_0=0,1$ mM, $Q=0,5$ mL/min e uma coluna contendo 50,0 mg de hidrogel seco.....	xliv
Anexo 51 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em DMAEMA. Condições da Análise Frontal: $C_0=0,1$ mM, $Q=0,5$ mL/min e uma coluna contendo 50,0 mg de hidrogel seco.....	xlv
Anexo 52 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA. Condições da Análise Frontal: $C_0=0,1$ mM, $Q=0,15$ mL/min e uma coluna contendo 7,3 mg de hidrogel seco.....	xlvi
Anexo 53 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA. Condições da Análise Frontal: $C_0=0,1$ mM, $Q=0,15$ mL/min e uma coluna contendo 7,3 mg de hidrogel seco.....	xlvii

Anexo 54 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=25$  °C,  $pH=7$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 50,6 mg de hidrogel seco.

..... xviii

Anexo 55 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=40$  °C,  $pH=7$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 50,6 mg de hidrogel seco.

..... xlix

Anexo 56 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=40$  °C,  $pH=7$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 50,6 mg de hidrogel seco.

Anexo 57 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=40$  °C,  $pH=10$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 15,6 mg de hidrogel seco. .... li

Anexo 58 – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=40$  °C,  $pH=10$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 15,2 mg de hidrogel seco. .... lii



# Lista de Abreviaturas

3-APy – 3-Aminopiridina

4-APy – 4-Aminopiridina

5-FU – 5-Fluoruracilo

AA – Ácido Acrílico

ADR – Adrenalina

AIBN – 2, 2'-Azobis (2-metil-propionitrilo)

APS – Persulfato de Amónio

AU – Unidades Arbitrárias

CAF – Cafeína

CAT – Catalisador

CL – Reticulante

CPN – Rede de Polímero Convencional

CRP – Polimerização Radicalar Controlada

$C_e$  – Concentração no equilíbrio

DI – Água Desionizada

DMAEMA – Dimetilaminoetil metacrilato

FRP – Polimerização Radicalar Clássica

Full IPN – Rede de Polímero Interpenetrante Completa

GPC/SEC – Cromatografia de Exclusão de Tamanhos

INH – Isoniazida

IBU – Ibuprofeno

IPN – Rede de Polímero Interpenetrante

I – Iniciador

MAA – Ácido Metacrílico

MBA<sub>m</sub> – N, N'-metileno-bis-acrilamida

M – Monómero

NIPA – N-isopropilacrilamida

Na-IBU – Sal de Sódio de Ibuprofeno

$n_{CL}$  – Número de moles do reticulante

$n_I$  – Número de moles do iniciador

$n_M$  – Número de moles do monómero

PN – Rede de Polímero

$Q_e$  – Quantidade de fármaco adsorvido no equilíbrio

RAFT – Polimerização via Transferência de Cadeia Reversível por Adição-Fragmentação

SNC – Sistema Nervoso Central

Solv. – Solvente

Semi-IPN – Rede de Polímero Semi-interpenetrante

SPE – Extração em Fase Sólida

SR – Razão de Inchamento

TEMED – N, N, N, N'-tetrametilenodiamina

THY – Timina

T – Temperatura

UR – Uracilo

$V_{50}$  – 2, 2'-azobis (2-Methylpropionamide) dihydrochloride

# Capítulo 1 - Introdução

## 1.1. Motivação

Nas últimas décadas os hidrogéis têm sido alvo de imensos estudos por apresentarem diversas aplicações em biotecnologia e biomedicina. De facto, estes polímeros têm adquirido uma elevada importância em diferentes áreas, nomeadamente nas áreas biomédica e farmacêutica, entre outras, por serem biocompatíveis, não tóxicos e biodegradáveis, tendo como principais aplicações a produção de órgãos artificiais, matrizes de regeneração, produção de lentes de contacto e de sistemas de libertação controlada de princípios ativos [1,2].

Os hidrogéis que cativam mais interesse na libertação controlada de fármacos são aqueles que possuem sensibilidade à temperatura e ao pH, pois podem em princípio ser usados na libertação de moléculas retidas no seu interior em resposta a pequenas alterações do meio envolvente. Por exemplo, os hidrogéis aniónicos sensíveis ao pH poderão ter um comportamento mais eficiente na libertação controlada de fármacos no sistema digestivo (devido às variações de pH), podendo ser úteis nomeadamente no tratamento do cancro colorretal. De facto, visto que o inchamento destes hidrogéis depende do pH do meio envolvente, como por exemplo no trato gastrintestinal onde o pH no estômago (inferior 3) é muito diferente do pH do intestino (superior a 8). Esta diferença é suficientemente grande para provocar comportamento desejado destes materiais. A um pH ácido, estes hidrogéis permanecem colapsados (contraem), e as moléculas de fármaco são protegidas no ambiente ácido do estômago devido à sua libertação limitada. Por outro lado, com passagem do hidrogel do estômago para o intestino delgado superior, a alteração drástica do pH irá causar o inchamento do hidrogel e assim libertar as moléculas de fármaco [3,4]. Muitas razões justificam a adoção de sistemas de libertação controlada de fármacos no colón, nomeadamente o facto de formas de administração oral se mostrarem ineficientes, uma vez que não protegem a libertação do fármaco no estômago e intestino delgado, sendo mesmo absorvido ou degradado nesses locais.

Neste trabalho são desenvolvidos hidrogéis IPNs (redes de polímeros interpenetrantes) de forma a tentar combinar as propriedades favoráveis de cada componente de polímero dentro de uma nova rede global de hidrogel e/ou melhorar as propriedades mecânicas e biológicas de cada constituinte. Geralmente, o hidrogel IPN resultante possui

propriedades diferentes dos seus componentes e, em muitos casos, são observados efeitos sinérgicos. Devido a estas características, os hidrogéis IPN têm cativado interesse substancial em estudos centrados no desenvolvimento de novos tipos de materiais adequados para várias aplicações biomédicas [2].

O presente trabalho descreve a síntese, caracterização e testes de adsorção e libertação de fármacos em modo *batch* e em modo contínuo a partir de hidrogéis CPNs (redes de polímeros convencionais) e IPNs. Foram geradas em laboratório redes de polímero interpenetrantes com sensibilidade simultânea à variação da temperatura e pH do seu meio envolvente (soluções aquosas). A variação da razão de inchamento dos materiais sintetizados em função de parâmetros críticos para aplicações biológicas (temperatura, pH) foi também realizada em laboratório. Foi ainda feito um estudo sobre as estruturas químicas presentes nos materiais sintetizados (análise FTIR) de forma a tentar verificar se de facto ocorreu a interpenetração entre as redes poliméricas. Os testes dos hidrogéis compreenderam a adsorção e libertação de vários fármacos considerando também diferentes estímulos (variação da temperatura e do pH). Para realização destes estudos foram seleccionados fármacos que são amplamente utilizados em medicina, nomeadamente o 5-fluoruracilo que é utilizado no tratamento de vários carcinomas. Foi também considerada a 4-aminopiridina que pode ser utilizada no tratamento de esclerose múltipla e a cafeína que é utilizada como estimulante do sistema nervoso central. O ibuprofeno (utilizado como anti-inflamatório/analgésico) foi também considerado em alguns testes realizados.

## 1.2. Objetivos

A realização deste trabalho teve como objetivos principais a síntese e a caracterização de redes poliméricas interpenetrantes (IPNs). Procurou-se compreender o processo de síntese e o seu efeito nas propriedades dos materiais obtidos, nomeadamente sobre a possibilidade de serem estimulados através de alterações das suas condições envolventes. Foi também avaliado o desempenho destes hidrogéis na adsorção e libertação de fármacos. Assim, foram objetivos específicos deste trabalho, a síntese de diferentes tipos de hidrogéis IPNs, nomeadamente iónicos, catiónicos, anfotéricos e sensíveis à temperatura. Os IPNs foram sintetizados através de polimerização radicalar clássica (FRP), tendo sido consideradas diferentes estratégias de interpenetração das redes de base (variação do solvente, concentrações, temperatura, iniciador, etc). Foi

feito o estudo da razão de inchamento (SR) dos hidrogéis sintetizados, quando colocados em soluções aquosas com diferentes condições circundantes, nomeadamente de temperatura e pH. Pretendeu-se desta forma mostrar que os hidrogéis IPNs podem efetivamente ser estimulados e também avaliar o diferente impacto desses estímulos em IPNs. Estes estudos são importantes tendo em vista a selecção dos hidrogéis que apresentam maior capacidade para serem estimulados de forma combinada e à partida com maiores potencialidades na adsorção e libertação de fármacos. Outro objectivo desta investigação consistiu na quantificação da adsorção dos fármacos nos IPNs em modo fechado (*batch*) e também em modo contínuo, quando submetidos a diferentes estímulos. Também se desenvolveram ferramentas de simulação matemática em *Matlab*®, úteis na interpretação dos dados de adsorção em modo *batch* e por análise frontal. Com este trabalho espera-se contribuir para o aprofundamento do conhecimento acerca dos hidrogéis inteligentes baseados em IPNs e das suas potencialidades como meios de incorporação e libertação de biomoléculas, visando aplicações em sistemas biológicos e em biomedicina.

### **1.3. Disposição do Trabalho**

Este trabalho compreende sete capítulos, incluindo o actual, que estão organizados da forma que se passa a descrever. No segundo capítulo faz-se uma fundamentação teórica da investigação aqui realizada. Apresenta-se neste capítulo uma descrição geral de hidrogéis dando maior importância aos IPNs. São também mencionadas algumas aplicações dos IPNs e apresentados alguns detalhes dos fármacos utilizados nos testes de adsorção e libertação. É ainda descrita de uma forma simples a reacção de polimerização (FRP) utilizada na síntese dos IPNs. Ao longo deste capítulo é também realizada uma breve revisão bibliográfica de trabalhos anteriores nesta área de investigação. No terceiro capítulo é apresentado o procedimento experimental adotado para a síntese dos IPNs. No quarto capítulo é demonstrada a sensibilidade dos hidrogéis sintetizados à temperatura e ao pH, quando estimulados através da variação das condições envolventes. Apresentam-se medições da razão de inchamento em função da temperatura e do pH. São analisados os espectros FTIR dos IPNs por forma a fazer a sua avaliação em termos da estrutura química, nomeadamente a identificação de grupos funcionais e ligações químicas, tentando assim perceber se o processo de interpenetração foi concretizado. No quinto capítulo apresentam-se os testes de

adsorção em modo fechado, assim como a modelação matemática dos dados experimentais para determinação das isotérmicas de adsorção. No sexto capítulo analisam-se os resultados obtidos relativos à adsorção e libertação por SPE e por análise frontal de diferentes fármacos com diferentes hidrogéis. Os testes incluem diferentes estimulações, como a variação da temperatura, a variação do pH e a combinação de ambas as variações, tendo como objetivo quantificar a fração de fármaco retida no hidrogel. No sétimo capítulo apresentam-se as principais conclusões desta investigação e sugestões para trabalhos futuros nesta área.

## Capítulo 2 - Fundamentação Teórica

### 2.1. Introdução

Neste capítulo apresenta-se uma breve descrição dos hidrogéis, dando uma maior importância às redes poliméricas interpenetrantes (IPNs). Seguidamente apresenta-se alguns dos fármacos envolvidos nos estudos experimentais, a utilização destes no tratamento de algumas doenças, nomeadamente o alzheimer, esclerose múltipla e alguns carcinomas do trato gastrointestinal. Por fim, é realizada uma explicação genérica do processo de polimerização considerado na parte experimental para a síntese dos IPNs e, é também realizada uma breve revisão bibliográfica de estudos anteriores nesta área de investigação.

### 2.2. Hidrogéis

Hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais hidrofílicas capazes de absorver e reter elevadas quantidades de água ou de um fluido biológico sem que ocorra dissolução do polímero, devido às suas propriedades físico químicas [1,3,5]. Os hidrogéis que incham e colapsam reversivelmente devido a pequenas alterações nas condições ambientais, tais como a temperatura, pH, estímulo elétrico, a luz, e força iónica, solvente, presença de moléculas específicas entre outros, são conhecidos “*stimuli-responsive*” ou hidrogéis inteligentes. A temperatura e o pH são amplamente utilizados neste estudo uma vez que são estímulos fáceis de controlar e com grande importância em sistemas biológicos [1,6,7].

Sendo insolúveis, estas redes tridimensionais hidrofílicas podem reter grandes quantidades de água, que não só contribui para a sua compatibilidade com o sangue como também mantêm uma certa elasticidade e integridade estrutural. Porém, a característica comum a todos os hidrogéis é a compatibilidade com a água que advém da presença de grupos funcionais hidrofílicos, tais como, -OH, -COOH, -CONH<sub>2</sub>, -COHN e -SO<sub>3</sub>H, fazendo com que inchem facilmente em água [7,8]. A quantidade de água absorvida pelo hidrogel ou inchaço depende essencialmente da relação entre o número de cadeias poliméricas hidrofílicas e hidrofóbicas e do grau de reticulação da rede. A forma como um hidrogel incha ou contrai num meio pode ainda dever-se à forma como o polímero responde a determinados estímulos externos/ambientais, já referidos anteriormente.

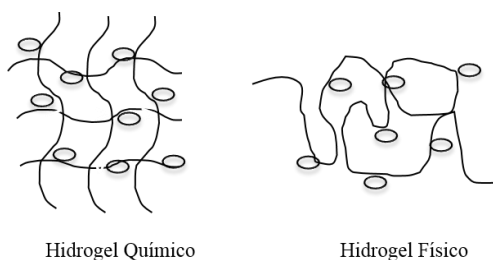
Os hidrogéis podem ser preparados a partir de polímeros naturais ou sintéticos. Embora os hidrogéis feitos a partir de polímeros naturais, geralmente apresentam propriedades mecânicas não ideais sendo ainda relativamente difícil de manter o fabrico destes com propriedades reprodutíveis, devido à inerente variabilidade dos polímeros naturais. Por sua vez, os polímeros sintéticos têm comumente estruturas bem definidas que podem ser modificadas com o objetivo de obter degradabilidade e funcionalidade requeridas [9].

Os hidrogéis podem ser classificados tendo em conta diferentes aspetos, tais como a composição do polímero, a natureza da carga iónica e as suas propriedades estruturais [8], estas características estão apresentadas na Tabela 2.1.

**Tabela 2.1** – Classificação dos hidrogéis [8,10].

Composição do Polímero	Natureza da Carga Iónica	Propriedades Estruturais
Homopolímero (polimerização de um único monómero hidrofílico)	Aniónicos (se contém apenas cargas negativas)	Amorfo (moléculas orientadas de forma aleatória e entrelaçadas)
	Catiónicos (se contém apenas cargas positivas)	Semi cristalino (moléculas com empacotamento regular e ordenado em determinadas regiões da matriz)
Copolímero (polimerização de dois tipos de monómeros, sendo um deles obrigatoriamente hidrofílico)	Anfotéricos (comportam-se como ácidos ou bases, dependendo do meio em que estão inseridos)	Ligado por pontes de hidrogénio (as moléculas estão ligadas por pontes de hidrogénio)
Polímeros de cadeia interpenetrada (polimerização de uma rede no interior de outra previamente sintetizada, de modo que cada rede é formada por um único tipo de polímero)	Zwiteriónicos (número e cargas negativas igual ao número de cargas positivas)	Estado sólido

Os hidrogéis podem ainda ser classificados como químicos ou físicos, conforme o tipo de ligações estabelecidas entre as cadeias poliméricas (ver Figura 2.1). As cadeias dos polímeros nos hidrogéis químicos encontram-se ligadas entre si por ligações covalentes. Relativamente aos hidrogéis físicos, as cadeias encontram-se associadas através de ligações reversíveis, mais ou menos fortes, e que incluem as ligações por pontes de hidrogénio, ligações iónicas ou interações hidrofóbicas [11].



**Figura 2.1** – Ilustração das estruturas dos hidrogéis.

Os hidrogéis apresentam algumas vantagens que os tornam interessantes para a utilização em aplicações biomédicas, das várias existentes destacam-se [5]:

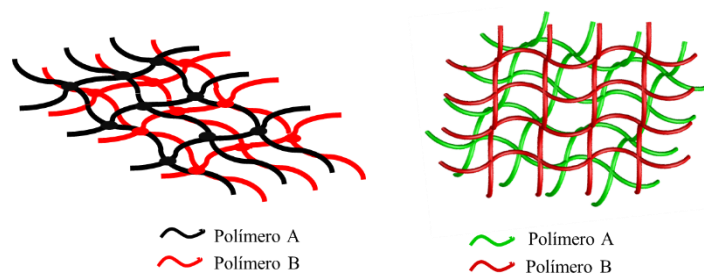
- ✓ A capacidade de inchar em água, o que os assemelha a muitos tecidos biológicos;
- ✓ A sua consistência elastomérica minimiza o atrito entre tecidos e hidrogel;
- ✓ A permeabilidade permite o fluxo pelo material, pois os hidrogéis apresentam porosidade;
- ✓ Facilidade de obtenção em diferentes formas;
- ✓ Permite a incorporação e libertação controlada de fármacos.

Contudo, para que possamos utilizar os hidrogéis nas mais diversas áreas, é necessário que sejam de fácil aplicação e que apresentem boa resistência mecânica. Por exemplo, para serem utilizados como dispositivos de libertação controlada de fármacos é importante que permaneçam íntegros durante o tempo de utilização, a não ser que sejam gerados para ser biodegradáveis. Os hidrogéis geralmente apresentam propriedades mecânicas bastante fracas quando comparados aos demais materiais poliméricos [12]. Porém, é possível sintetizar hidrogéis com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas a partir da variação do grau de reticulação e da formação de redes poliméricas interpenetrantes (IPNs) ou semi-interpenetrantes (semi-IPNs), este tipo de hidrogel será analisado com mais detalhe nas próximas secções.

### **2.3. Redes Poliméricas Interpenetrantes (IPNs)**

Nos últimos anos aumentou a necessidade de melhorar as propriedades de alguns materiais e para isso procedeu-se à combinação de polímeros. A fim de ultrapassar o pobre desempenho biológico e para melhorar a resistência mecânica das redes poliméricas convencionais foi introduzido uma nova geração de polímeros que se baseiam na junção de polímeros naturais ou sintéticos, isolados ou combinados [13].

Rede polimérica interpenetrante (IPN) pode ser definida como a combinação de dois ou mais polímeros em forma de rede, na qual pelo menos um polímero é sintetizado ou reticulado na presença de outro [14]. Quando as cadeias do segundo polímero estão envolvidas ou interpenetradas à rede do primeiro polímero, resulta na formação de uma rede fisicamente reticulada. Eles também são diferentes dos copolímeros, pois na obtenção de IPNs não existe a introdução de ligações covalentes entre os dois polímeros, ou seja, um monómero **A** reage apenas com as moléculas deste monómero, e monómero **B** reage com as moléculas de **B**. Deste modo, e da mesma forma que as misturas mecânicas e os copolímeros, os IPNs representam uma terceira opção pela qual é possível combinar fisicamente dois polímeros diferentes. A combinação de dois ou mais polímeros é uma maneira de obter materiais com melhores propriedades dependendo da composição e do grau de reticulação [14,15]. A Figura 2.2 ilustra a estrutura de um IPN formado por dois polímeros reticulados.



**Figura 2.2** – Representação de uma rede polimérica interpenetrante (IPN).

Genericamente, os IPNs são produzidos com o objetivo de combinar as propriedades individuais de dois ou mais polímeros. Em alguns casos, as novas propriedades são totalmente apresentadas pelos IPNs, não sendo observadas em qualquer uma das duas redes individuais [16]. O desenvolvimento de redes poliméricas interpenetrantes tornou-se bastante interessante porque os IPNs proporcionam também espaços livres (cavidades) para a fácil incorporação de fármacos na estrutura da rede tridimensional, como resultado da reticulação de duas ou mais redes poliméricas [17]. As várias propriedades dos IPNs, tais como, a porosidade, a aderência, a elasticidade, o inchamento e o comportamento estímulo-resposta podem ser controlados pela escolha apropriada da rede polimérica (monómeros) e do agente reticulante (*crosslinker*), assim como das quantidades utilizadas [18].

É de referir que uma rede de polímero interpenetrante é qualquer material que englobe pelo menos dois polímeros, cada um em forma de rede. Deste modo, idealmente, um IPN pode ser qualificado pelas seguintes condições principais:

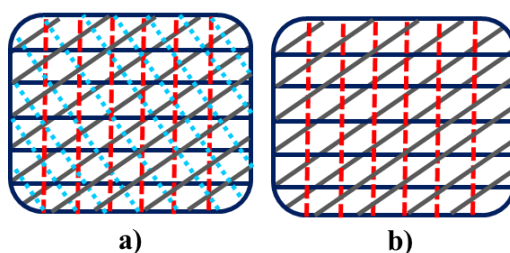
- ✓ Os dois polímeros são sintetizados ou reticulados na presença do outro.
- ✓ Os dois polímeros apresentam cinéticas análogas.

No entanto, na prática, os materiais que possuam apenas um polímero reticulado (onde os polímeros são sintetizados separadamente) ou em que os polímeros apresentam uma cinética diferente são ainda considerados como redes poliméricas interpenetrantes [19-21].

### 2.3.1. Classificação dos IPNs

As redes poliméricas interpenetrantes podem ser classificadas segundo o método de preparação química utilizado ou pela estrutura (ligação química) entre os polímeros que as constituem.

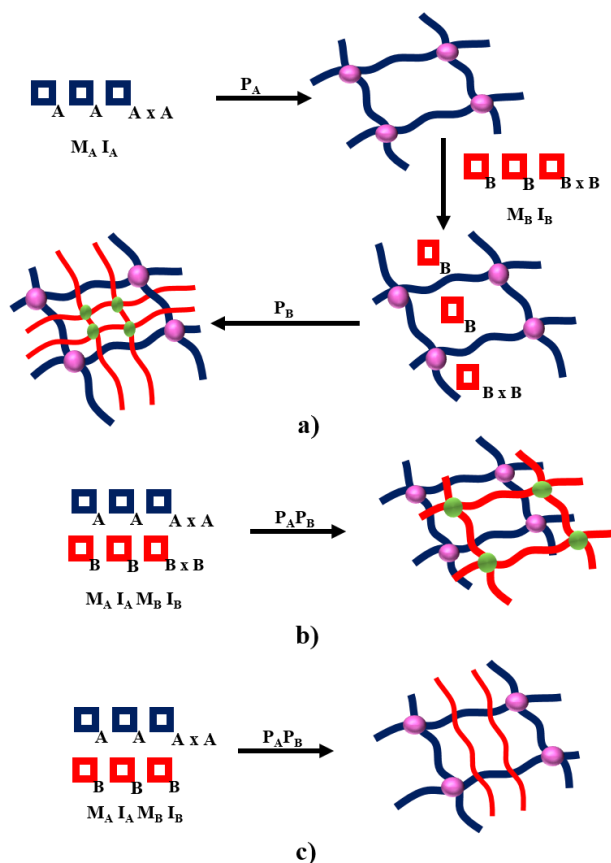
Pela estrutura, os hidrogéis IPNs podem ser classificados em IPNs, IPNs completos e semi-IPNs. É considerado IPN quando é formado por duas redes idealmente unidas com muitos enredos e interações físicas entre eles. Quanto ao IPN completo, este é um caso especial do IPN, onde dois ou mais polímeros formam redes independentes com a mesma estrutura e que estão idealmente justapostas (ver Figura 2.3 a)). O semi-IPN ocorre quando um dos polímeros se apresenta em forma linear em vez de uma estrutura de rede (ver Figura 2.3 b)) [21,22].



**Figura 2.3** – Representação esquemática dos IPNs classificados segundo a estrutura: **a)** IPN completo; **b)** Semi-IPN (— Monómero 1; - - - Reticulante 1; — Monómero 2; . . . . Reticulante 2).

Por outro lado, os IPNs podem ser divididos em IPN sequencial ou IPN simultâneo dependendo das etapas de síntese ou da preparação química utilizada. O IPN sequencial é obtido pela combinação do monómero **A** com um agente reticulante e um iniciador para formar a rede **A**. A rede **A** incha no monómero **B** contendo também um agente

reticulante e um iniciador para formar a rede **B** (ver Figura 2.4 a)). O IPN simultâneo é obtido pela combinação dos monómeros **A** e **B** com os seus respectivos agentes reticulantes e iniciadores, simultaneamente (ver Figura 2.4 b)), ou seja, são sintetizados ao mesmo tempo. Também se pode obter um semi-IPN sendo este um IPN sequencial, onde o polímero **A** é reticulado e o polímero **B** é linear (ver Figura 2.4 c)) [19,21,22].



**Figura 2.4** – Estrutura física dos tipos de IPNs classificados segundo o método de preparação: **a)** IPN sequencial; **b)** IPN simultâneo; **c)** Semi-IPN (— Rede **A**; — Rede **B**; ● e ● pontos de reticulação; **M**=monómero; **I**=iniciador; **X**=agente reticulante e **P**=polimerização).

### 2.3.2. Propriedades dos IPNs

Os IPNs possuem algumas características próprias, que os distinguem de outros materiais poliméricos. Em concreto, um IPN pode inchar em solventes sem se dissolver, sendo distinguível das misturas de copolímeros em bloco e copolímeros de enxerto. Estes sistemas diferem de outros principalmente devido ao número e tipos de ligações cruzadas que existem aquando a sua formação. Os materiais formados a partir de IPNs partilham as propriedades características de cada rede individual. No entanto, o homopolímero sozinho não pode satisfazer a procura divergente em termos de propriedades e desempenho. Por conseguinte, um composto ou um IPN de dois ou três

polímeros diferentes é uma opção alternativa. O IPN inclui duas ou mais redes de polímero que são pelo menos parcialmente interpenetradas numa escala molecular, mas não são ligadas covalentemente uma à outra, e não podem ser separadas a menos que as ligações químicas sejam quebradas. A maior parte dos IPNs são sistemas heterogêneos constituídos por uma fase semelhante a borracha e uma fase vítrea, que produzem um efeito sinérgico. Por isso, os sistemas baseados em IPNs alcançaram um bom potencial para desenvolver a libertação controlada de fármacos [19,23].

Por outro lado, os IPNs apresentam vantagens que os tornam bastante interessantes e populares devido às suas características inerentes, podendo ser utilizados numa vasta gama de aplicações, nomeadamente na área biomédica, como será discutido posteriormente. Assim sendo, como principais vantagens destacam-se:

- ✓ Sempre que um hidrogel IPN é formado a partir de dois polímeros a uma dada temperatura, separação física entre os polímeros componentes será praticamente impossível devido à viscosidade do hidrogel.
- ✓ IPN pode partilhar as propriedades de ambos os polímeros e produzir efeitos sinérgicos a partir dos polímeros componentes. Por exemplo, quando um polímero de gelificação hidrofílico é interpenetrado com um polímero de gelificação relativamente hidrofóbico, o hidrogel IPN resultante deverá ter uma melhor e maior capacidade para a libertação controlada de fármacos.
- ✓ Os IPNs podem aumentar a resistência mecânica e aceitabilidade biológica que pode ser adquirida a partir de propriedades sinérgicas de ambos os polímeros naturais e sintéticos.
- ✓ Devido ao sistema de compactação permanente dos segmentos de rede, a incompatibilidade termodinâmica pode ser superada, visto que os componentes são misturados cuidadosamente e reagem no momento de síntese [19,24].

### **2.3.3. Aplicações dos IPNs**

Nos últimos anos a utilização de hidrogéis têm sido exaustivamente estudada para aplicações biomédicas e farmacêuticas, nomeadamente em sistemas de libertação controlada de fármacos, em engenharia dos tecidos e em dispositivos médicos [25].

No entanto, surgiu a necessidade de desenvolver estruturas por forma a combinar dois ou mais polímeros com o intuito de obter melhores propriedades específicas. Assim surgiu um novo hidrogel designado por IPN [22,24].

Deste modo, os IPNs apresentam uma vasta gama de aplicações, tanto na área farmacêutica como na área de biomédica.

Na área farmacêutica os IPNs são utilizados em sistemas de libertação controlada de fármacos, as aplicações mais frequentes são através de microesferas, nano e micropartículas e cápsulas [13,22]. Os IPNs de microesferas, de nano e micropartículas são considerados um veículo versátil para a libertação controlada fármacos, devido à sua capacidade de incorporar uma grande variedade de fármacos, para além de apresentarem elevada biocompatibilidade e biodegradabilidade [13].

Por outro lado, na área de biomédica as aplicações mais promissoras passam pelo fabrico de tecidos (engenharia dos tecidos), tendo como objetivo proporcionar a substituição funcional de tecidos danificados ou órgãos para os pacientes [26,27]. Esta requer um *scaffold* (estrutura) mecanicamente estável, biocompatível e biodegradável, que permita a adesão e proliferação celular, e também a proteção das propriedades específicas das células [13,24,28]. Normalmente também são apropriados para implantes [29,30].

Em outras áreas, IPNs são também aplicados na libertação controlada de fármacos, em transplantes da córnea, produção de lentes de contacto e no fabrico de *scaffolds* [24,28,31].

É de salientar que nos últimos anos surgiram vários produtos comerciais onde são utilizados materiais baseados em IPNs para o tratamento de doenças como o cancro, perturbações neurológicas, problemas vasculares, infeções ósseas ou distúrbios da retina [31].

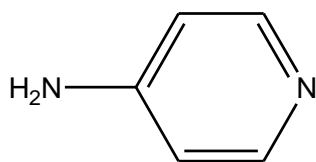
## 2.4. Fármacos

Um fármaco (medicamento) é qualquer substância, diferente de um alimento ou de um artefacto, que é utilizado para o diagnóstico, o alívio, o tratamento ou a cura de doenças, assim como a prevenção das mesmas. No entanto, outros fármacos afetam a estrutura ou o funcionamento do organismo, como exemplo os anticoncepcionais orais, que afetam a estrutura ou as funções do organismo, isto é, a sua finalidade não é interferir no processo de uma doença. Portanto, uma simples e útil definição de fármaco é “*qualquer produto químico que afete o organismo e o seu funcionamento*” [32].

Neste subcapítulo apresenta-se algumas propriedades físico químicas, estrutura química e a finalidade de alguns fármacos utilizados neste estudo, como a 3-aminopiridina e 4-aminopiridina, o 5-Fluoruracilo, a cafeína e o ibuprofeno.

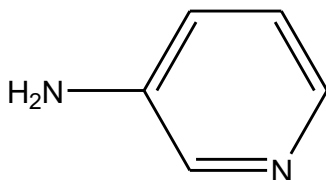
### 2.4.1. 4-Aminopiridina

A molécula 4-aminopiridina (4-APy) desempenha um papel importante no sistema biológico, atua como bloqueador de canais de potássio, permitindo assim, que a condução dos nervos seja restaurada. Porém, leva ao aumento do fluxo de iões  $\text{Ca}^{2+}$  nos terminais pré-sináptica, como resultado aumenta a transmissão neuronal ou neuromuscular nos neurónios normais [33]. Estas propriedades farmacológicas tem aumentado o interesse na química e bioquímica da 4-APy, no que diz respeito ao potencial terapêutico para controlo de doenças relacionadas com transmissão neurológica. Existem vários estudos na literatura que demonstram o uso de 4-APy em testes clínicos com pacientes portadores de esclerose múltipla, lesões graves ao nível da medula espinhal e da doença do Alzheimer [34,35]. No Anexo 1 apresentam-se algumas propriedades físico químicas deste composto, assim como a sua estrutura química [36].



**Figura 2.5** – Estrutura química da 4-aminopiridina.

Por outro lado, também foi utilizada nestes estudos a 3-aminopiridina (3-APy), esta é um isómero da 4-aminopiridina e apresenta um efeito nocivo, tóxico e cancerígeno. Além disso, é resistente à degradação biológica [37]. No Anexo 1 são apresentadas algumas propriedades físico químicas deste composto, assim como a sua estrutura química [36].



**Figura 2.6** – Estrutura química da 3-aminopiridina.

### 2.4.2. 5-Fluoruracilo

O 5-Fluoruracilo (5-FU) é um agente antineoplásico que pertence ao grupo das fluoropiridinas. Este fármaco têm sido amplamente utilizados no tratamento de tumores malignos, especialmente cólon, mama, cabeça e pescoço. O mecanismo de ação do 5-FU é atribuído principalmente à incorporação de fluoronucleotídeos no DNA e RNA durante a síntese destas moléculas, e à inibição da enzima timidilato sintetase (TS), feita pelo seu metabólito ativo, o 5-fluoro-2'-deoxiuridina 5'-monofosfato (FdUMP) [38].

No entanto, apresenta efeitos secundários, tais como a severa toxicidade do sistema gastrointestinal ou mielosupressão. O 5-FU continua a ser o principal tratamento contra o cancro colorretal, sendo que uma libertação controlada de 5-FU no cólon através de administração oral é a mais conveniente para os pacientes [39]. No Anexo 1 são apresentadas algumas propriedades físico químicas deste composto, assim como a sua estrutura química [36].

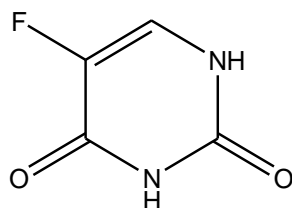


Figura 2.7 – Estrutura química do 5-fluoruracilo.

### 2.4.3. Cafeína

A cafeína está presente em diversas plantas, é também encontrada em chás, café e refrigerantes. Muitas das ações que a cafeína exerce têm mecanismos semelhantes às anfetaminas, cocaína e heroína, no entanto, apresenta efeitos mais leves. O efeito mais conhecido da cafeína é a sua ação estimulante ao nível do SNC, tendo em conta que esta substância possui uma hidrofobicidade suficiente para atravessar as membranas biológicas permitindo que, após a sua ingestão, esta seja eficientemente absorvida do trato gastrointestinal e rapidamente distribuída pelo organismo, e assim atingir o córtex cerebral exercendo aí os seus efeitos. Nos seres humanos estes efeitos traduzem-se por uma redução da fadiga levando à insónia, com uma melhoria da concentração e capacidade de pensamento mais clara e também na capacidade do desempenho de atividades motoras [7,40]. No Anexo 1 apresentam-se algumas propriedades físico químicas deste composto, assim como a sua estrutura química [36].

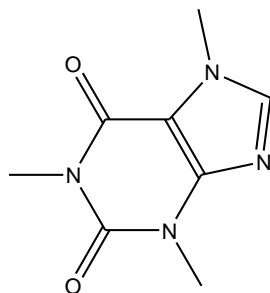


Figura 2.8 – Estrutura química da cafeína.

#### 2.4.4. Ibuprofeno

O ibuprofeno é um fármaco com propriedades anti-inflamatórias, analgésicas (dor) e antipiréticas (febre), pertencendo ao grupo dos anti-inflamatórios não esteróides. No entanto, apresenta alguns efeitos adversos, tais como, dor de cabeça e de estômago, vômitos, diarreia, podendo também produzir diversas gastropatias, entre as quais, úlceras no estômago e duodeno. O ibuprofeno é praticamente insolúvel em água, mas é bastante solúvel em alguns solventes orgânicos como a acetona, o álcool etílico, o metano, o éter e o diclorometano, e em algumas soluções aquosas diluídas em hidróxidos alcalinos e de carbonatos [7]. É de salientar que para os presentes estudos experimentais utilizou-se um sal de sódio de ibuprofeno. No Anexo 1 são apresentadas algumas propriedades físico químicas deste composto, assim como a sua estrutura química [36].

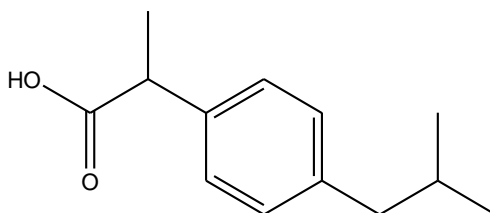


Figura 2.9 – Estrutura química do ibuprofeno.

### 2.5. Reações de Polimerização

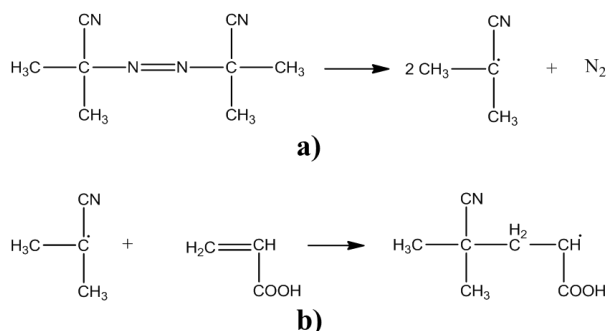
A reação de polimerização radicalar é um dos tipos mais importantes de síntese de macromoléculas que em geral ocorre entre compostos de ligação dupla carbono-carbono que combinem quimicamente [41]. No entanto, neste tipo de reação as espécies podem ser radicais ou iões (aniões ou catiões) e o processo de polimerização designa-se por polimerização radicalar ou polimerização iónica (aniónica e catiónica), respetivamente.

Neste estudo são consideradas reações de polimerização em sistema fechado, descritas por um mecanismo cinético clássico por radicais livres [42]. Os processos de polimerização por radicais livres representam cerca de 50% da produção mundial de polímeros.

### 2.5.1. Polimerização Radicalar Clássica (FRP)

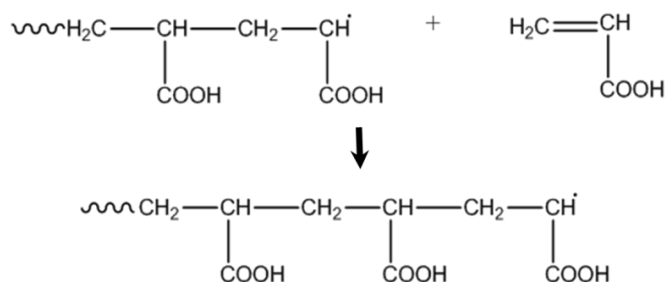
A polimerização radicalar clássica é um processo que segue a descrição do mecanismo cinético de polimerização de radicais livres, que é composto por três etapas bem definidas, a iniciação, a propagação e a terminação [41,42].

A primeira, a iniciação, é composta por duas reações, a dissociação do iniciador (por exemplo, o AIBN) onde são criados radicais livres, seguida da associação de uma molécula de monómero (por exemplo, AA) aos radicais livres, pois estes têm a capacidade de fazer a iniciação do monómero [7]. Na Figura 2.10 podemos visualizar um exemplo da etapa de iniciação.



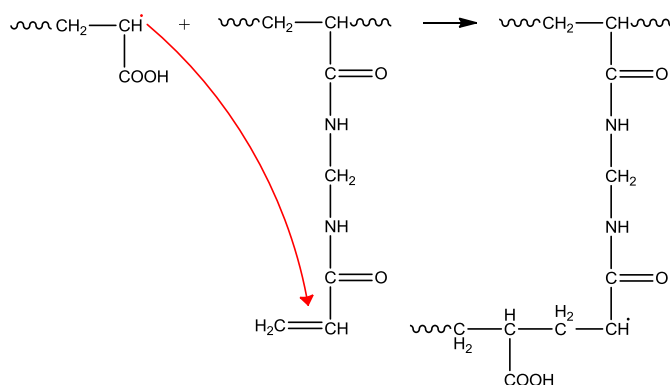
**Figura 2.10** – Etapa de iniciação: **a)** Dissociação do iniciador; **b)** Iniciação do monómero. Nesta ilustração utiliza-se-se AIBN e AA como iniciador e monómero, respetivamente.

A etapa que se segue é a propagação do monómero verifica-se o crescimento das cadeias de polímero através da adição de um radical polimérico com uma unidade de monómero [7]. A etapa da propagação pode ser observada na Figura 2.11, utilizando novamente AA como monómero de exemplo.



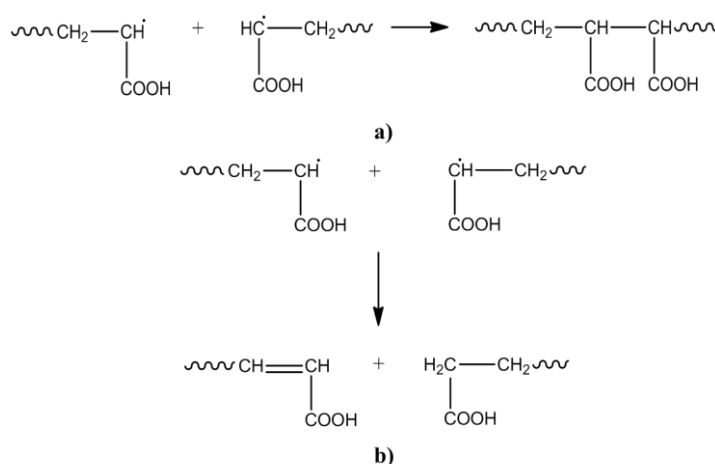
**Figura 2.11** – Etapa de propagação do monómero. Nesta ilustração utiliza-se AA como exemplo.

A etapa seguinte (ver Figura 2.12), a da reticulação das ligações duplas pendentes do agente reticulante estabelece a grande diferença entre uma polimerização radicalar linear e uma polimerização radicalar não linear. Na primeira, em geral, obtém-se a formação de produtos solúveis, enquanto que a outra leva à formação de hidrogéis insolúveis [7].



**Figura 2.12** – Etapa de reticulação com dupla pendente do agente reticulante. O sistema AA/MBA<sub>m</sub> é aqui utilizado como exemplo.

Na etapa de terminação, dois radicais ativos aniquilam-se mutuamente, destruindo assim os centros ativos. Esta etapa pode ocorrer de duas formas distintas, a primeira por combinação (ver Figura 2.13 a)) o que leva à formação de uma molécula de polímero inativo, e a segunda por dismutação (ver Figura 2.13 b)) que leva à formação de duas moléculas inativas [7].



**Figura 2.13** – Epata de terminação. **a)** Terminação por combinação; **b)** Terminação por dismutação. Unidades terminais de AA são aqui consideradas como exemplo.

Do ponto de vista geral, a polimerização radicalar clássica é um processo de extrema importância para a preparação de muitos polímeros comerciais de elevado peso molecular, visto que pode ser utilizada numa vasta gama de monómeros. Permite também a utilização de diferentes condições de reação (em massa, emulsão, suspensão e solução) e é compatível com bastantes grupos funcionais podendo ser utilizada num maior intervalo de temperaturas [8,41,42]. Contudo, a FRP apresenta algumas limitações, nomeadamente, o reduzido controlo de determinadas propriedades estruturais dos polímeros, a forte incidência das reações de terminação, gerando produtos com maior heterogeneidade [7,8]. Em consequência, nos últimos tempos, outros tipos de polimerizações, por exemplo, a polimerização radicalar controlada (CRP), nomeadamente a polimerização via transferência de cadeia reversível por adição-fragmentação (RAFT), têm sido amplamente estudadas e aplicadas a fim de corrigir os problemas associados à FRP.

## **2.6. Estudos Anteriores na Libertação de Fármacos através de IPNs**

Neste subcapítulo apresenta-se uma breve revisão bibliográfica sobre estudos existentes com as redes de polímero interpenetrantes e as suas aplicações na libertação de fármacos.

O conceito de IPN surgiu no ano 1914, quando a primeira rede de polímero foi inventada por Aylsworth [13]. Esta era uma mistura de borracha natural, enxofre e resinas de fenol-formaldeído parcialmente reativos. Porém, o termo IPN foi apresentado pela primeira vez por Miller em meados do século XX num estudo científico sobre redes de poliestireno [13]. Desde então, a área das redes de polímero interpenetrantes tem evoluído gradualmente. Os avanços na ciência de polímeros levaram ao desenvolvimento de vários sistemas de entrega de fármacos. Sendo neste contexto que os IPNs têm exibido um desempenho superior aos polímeros individuais (redes de polímero convencionais) e, como consequência, as diversas aplicações têm crescido rapidamente nesta classe de materiais. As propriedades avançadas dos IPNs cativaram consideravelmente a atenção nas áreas farmacêutica e biomédica, especialmente para a libertação controlada de fármacos e de moléculas bioativas destinadas a locais alvo [13,22,43]. Várias investigações demonstraram que uma variedade de fármacos podem

ser entregues eficazmente através de sistemas de libertação controlada baseados em IPNs, de seguida são apresentadas algumas dessas investigações.

O trabalho proposto por Zhang *et. al.* [44], baseia-se na síntese de hidrogéis IPNs sensíveis à temperatura (NIPA). Este quando comparado com um PNIPA convencional, apresenta maior colapso quando um hidrogel inchado numa solução de 20 °C é imerso numa solução a 50 °C. Por outro lado, a cinética contrária ao inchamento foi mais lenta do que a do hidrogel PNIPA por causa da densidade de reticulação ser mais elevada no hidrogel IPN. O hidrogel IPN também obteve uma melhor resistência mecânica devido à sua elevada densidade de reticulação e volume de polímero. Os autores também demonstraram o comportamento de libertação de 5-FU a partir do hidrogel IPN, que a temperaturas baixas apresenta uma libertação controlada pela difusão de moléculas de água na rede do hidrogel. A uma temperatura mais elevada, o 5-FU não pode difundir para o meio devido à contração do hidrogel, observando-se apenas uma libertação brusca causada pela libertação do fármaco na superfície do hidrogel.

O método proposto por Satish *et. al.* [45] baseia-se no desenvolvimento de redes de polímeros semi-interpenetrantes de poli (ácido metacrílico) e poli (álcool vinílico), sintetizadas por polimerização de radical clássica. Foi avaliado o efeito do agente reticulante e da concentração de PMAA nas características de inchamento e libertação de insulina. Os SIPNs também foram avaliados em termos da razão de inchamento, morfologia da superfície e estudos *in vitro* da libertação do fármaco em pH 2 e pH 7,4. Os resultados mostraram uma baixa libertação de insulina a pH 2,0, enquanto que a pH 7,4 se observa a sua libertação na totalidade.

Vaghani *et. al.* [46] desenvolveram um hidrogel SIPN baseado em quitosano e poli (N-vinilpirrolidona) (PVP), sendo sensível ao pH. Este hidrogel foi utilizado em sistemas de libertação controlada de claritromicina. Os hidrogéis mostraram uma razão de inchamento elevada e mucoadesão sob condições ácidas. O estudo de libertação *in vitro* revelou que o hidrogel composto por 2% w/v de quitosano e 4% w/v de PVP numa proporção de 21: 4, apresenta uma libertação do fármaco completa após 12 hr.

No trabalho proposto por Ekici *et. al.* [17] foram sintetizadas redes de polímeros interpenetrantes (IPNs) baseadas em quitosano e poli (N-vinilpirrolidona) e outras baseadas em quitosano e poli (ácido acrílico), reticuladas com glutaraldeído e MBA<sub>m</sub>. Foram investigados para libertação de fármacos ao nível gastrointestinal utilizando amoxicilina. Os hidrogéis IPN foram sintetizados por polimerização simultânea. Estudos de inchamento foram também realizados em fluido gástrico simulado de pH 1,1

e de fluido intestinal simulado a pH 7,4 para investigar a possibilidade de libertar os fármacos em locais específicos. Verificou-se que o comportamento de libertação do fármaco a partir destes hidrogéis IPN era dependente do pH do meio e a quantidade de agente reticulante no IPN. Observou-se que a libertação de amoxicilina a pH 7,4 foi mais elevada do que a pH 1,1. Os resultados mostraram que os hidrogéis IPN desenvolvidos podem servir como um potencial dispositivo para a libertação de fármacos onde o alvo principal é o estômago ou o intestino delgado superior.

No trabalho de Liu *et. al.* [47], os autores sintetizaram uma nova rede de polímero semi-interpenetrante com sensibilidade ao pH. O hidrogel foi preparado utilizando glucomanano de konjac (KGM) e poli (ácido aspártico) (PSAP) com trimetafosfato trissódico (STMP) como agente de reticulação. As propriedades de inchamento do hidrogel foram investigadas a uma temperatura de 37 °C e em soluções tampão de pH 2,2 e 7,4, como o do suco gástrico e fluídos intestinais, respetivamente. O comportamento de libertação de 5-FU a partir do hidrogel SIPN, mostra que a pH 2,2 a quantidade de 5-FU libertada é cerca de 23% em 180 min, enquanto que a pH 7,4 o fármaco é libertado quase na totalidade (95%). Estes resultados mostraram que os hidrogéis SIPNs com o 5-FU apresentam uma ótima afinidade com o meio envolvente, sendo assim um sistema de transporte polimérico adequado para a libertação de fármacos em locais alvo, nomeadamente no intestino delgado.

O trabalho proposto por Hosseinzadeh [48] visa o desenvolvimento de novo tipo de hidrogel IPN baseado em quitosano com poli (ácido acrílico) para a libertação controlada de anfetaminas. Hidrogéis IPNs foram sintetizados por polimerização simultânea/reticulação com o monómero de ácido acrílico na presença de quitosano e agente de reticulação. As propriedades de inchamento e as características de libertação do fármaco *in vitro* do hidrogel IPN foram investigadas em detalhe. Os IPNs foram caracterizados em termos da sua sensibilidade ao pH por meio de estudos de equilíbrio de inchamento. Observou-se que a libertação de anfetamina foi superior a pH 7,4 em comparação com pH 1,2. Portanto, o hidrogel IPN pode ser utilizado como sistema de libertação de fármacos para destinos específicos, particularmente no intestino.

Os trabalhos acima descritos exemplificam o uso de IPNs na libertação controlada de fármacos. Uma revisão bibliográfica mais abrangente sobre este assunto pode ser encontrada em outros trabalhos recentes, nomeadamente na referência [21]. O uso de IPNs sensíveis à temperatura e ao pH na libertação controlada de fármacos será explorada nos próximos capítulos deste trabalho.

# Capítulo 3 - Síntese de Redes Poliméricas Interpenetrantes

## 3.1. Introdução

Neste capítulo apresenta-se a descrição detalhada da síntese de IPNs (hidrogéis). Um dos objetivos deste trabalho era a demonstração da exequibilidade experimental da síntese de diferentes tipos IPNs, baseados em redes de ácido acrílico (AA) e N-isopropilacrilamida (NIPA) como forma de obtenção de materiais com sensibilidade simultânea ao pH (decorrente da rede de AA) e à temperatura (decorrente da rede de NIPA). Os hidrogéis foram sintetizados através de polimerização radicalar clássica (FRP), tendo sido consideradas diferentes estratégias de interpenetração das redes de base (variação do solvente, concentrações, temperatura, iniciador, etc). Os hidrogéis resultantes apresentam potenciais aplicações em biomedicina e na indústria farmacêutica, nomeadamente na libertação controlada de fármacos. Adicionalmente, foi considerada a interpenetração com redes catiónicas baseadas em DMAEMA para teste do efeito inverso do pH no inchamento dos materiais.

## 3.2. Materiais

As estruturas químicas e propriedades físico químicas dos diferentes materiais utilizados no decorrer deste trabalho podem ser consultadas nos Anexos 2 e 3 deste documento. Os reagentes foram utilizados conforme recebidos de forma a tentar reproduzir a prática industrial na síntese de polímeros. Os químicos fundamentais para a síntese e caracterização dos IPNs foram adquiridos à *Sigma-Aldrich* [36].

## 3.3. Síntese de Redes Poliméricas Interpenetrantes

A síntese dos IPNs é baseada em duas etapas principais, sendo a primeira a síntese da primeira rede convencional e a segunda a formação do IPN. Os procedimentos utilizados na síntese dos IPNs foram baseados em trabalhos propostos pelos autores Zhang *et. al.* e Huang *et. al.* [44,49]. Nas Tabelas 3.1 e 3.2 são descritos todos os hidrogéis sintetizados (IPNs e SIPNs). Nas tabelas, os parâmetros apresentados têm o seguinte significado:

A concentração de monómero ( $C_M$ ) expressa a razão entre a massa de monómero e a massa de monómero mais o solvente, conforme representado na Equação 3.1.

$$C_M = \frac{\text{massa de monómero}}{\text{massa de monómero} + \text{massa de solvente}} \times 100 \quad (3.1)$$

$\alpha_{CL}$  expressa a razão molar do reticulante relativamente ao monómero (M), conforme representado na Equação 3.2.

$$\alpha_{CL} = \frac{n_{CL}}{n_{CL} + n_M} \times 100 \quad (3.2)$$

$\alpha_I$  expressa a razão molar do iniciador relativamente ao monómero (M), conforme representado na Equação 3.3.

$$\alpha_I = \frac{n_I}{n_M} \times 100 \quad (3.3)$$

$r_{CAT}$  expressa a razão entre a massa de catalisador e a massa de iniciador, conforme representado na Equação 3.4.

$$r_{CAT} = \frac{\text{massa de catalisador}}{\text{massa de iniciador}} \quad (3.4)$$

A concentração da primeira rede expressa a razão entre a massa da primeira rede e a massa de solvente utilizado na segunda rede, conforme representado na Equação 3.5.

$$C_{PN} = \frac{\text{massa da primeira rede}}{\text{massa de solvente}} \quad (3.5)$$

**Tabela 3.1** – Condições experimentais utilizadas na síntese de redes de polímeros interpenetrantes (IPNs).

IPN	PN	M	CL	I	CAT	Solv.	$C_M$ (%)	$\alpha_{Cl}$ (%)	$\alpha_I$ (%)	Temperatura de Síntese	$r_{CAT}$	$C_{PN}$ (g/g)
IPN 1	1	NIPA	MBAm	APS	TEMED	Água	6,4 %	1,0 %	0,21 %	25 °C	0,22	---
	2	NIPA	MBAm	APS	TEMED	Água	2,3 %	1,0 %	0,21 %	25 °C	0,21	0,017
IPN 2	1	AA 1	MBAm	V50	---	Água	10,1 %	0,23 %	0,23 %	50 °C	---	---
	2	NIPA	MBAm	V50	---	Água	0,5 %	0,22 %	0,23 %	50 °C	---	0,010
IPN 3	1	AA 1	MBAm	V50	---	Água	10,1 %	0,23 %	0,23 %	50 °C	---	---
	2	NIPA	MBAm	AIBN	---	THF	15,2 %	0,39 %	0,77 %	60 °C	---	0,113
IPN 4	1	AA 1	MBAm	V50	---	Água	10,1 %	0,23 %	0,23 %	50 °C	---	---
	2	NIPA	MBAm	AIBN	---	DMF	14,3 %	0,37 %	0,69 %	60 °C	---	0,107
IPN 5	1	AA 1	MBAm	V50	---	Água	10,1 %	0,23 %	0,23 %	50 °C	---	---
	2	NIPA	MBAm	AIBN	---	Etanol	16,8 %	0,39 %	0,70 %	60 °C	---	0,127
IPN 6	1	AA 1	MBAm	V50	---	Água	10,1 %	0,23 %	0,23 %	50 °C	---	---
	2	NIPA	MBAm	V50	---	Água	8,3 %	0,75 %	0,43 %	50 °C	---	0,090
IPN 7	1	AA 1	MBAm	V50	---	Água	10,1 %	0,23 %	0,23 %	50 °C	---	---
	2	NIPA	MBAm	V50	---	Água	8,3 %	0,75 %	0,43 %	50 °C	---	0,090
IPN 8	1	NIPA	MBAm	V50	---	Água	9,7 %	0,72 %	0,41 %	50 °C	---	---
	2	AA	MBAm	V50	---	Água	29,7 %	0,65 %	0,37 %	50 °C	---	0,603
IPN 9	1	AA 2	MBAm	V50	---	Água	35,6 %	2,18 %	1,27 %	50 °C	---	---
	2	DMAEMA	MBAm	V50	---	Água	67,4 %	2,30 %	1,37 %	50 °C	---	1,005
IPN 10	1	NIPA	MBAm	V50	---	Água	9,66 %	0,72 %	0,40 %	50 °C	---	---
	2	DMAEMA	MBAm	V50	---	Água	43,9 %	1,06 %	0,62 %	50 °C	---	0,603

**Tabela 3.2** – Condições experimentais utilizadas na síntese de redes de polímeros semi interpenetrantes (SIPNs).

SIPN	PN	M	CL	I	Solv.	$C_M$ (%)	$\alpha_{Cl}$ (%)	$\alpha_I$ (%)	Temperatura de Síntese	$C_{PN}$ (g/g)
SIPN 1	1	AA 1	MBAm	V50	Água	10,1 %	0,23 %	0,23 %	50 °C	---
	2	NIPA	---	AIBN	THF	14,9 %	---	0,71 %	60 °C	0,114
SIPN 2	1	AA 1	MBAm	V50	Água	10,1 %	0,23 %	0,23 %	50 °C	---
	2	NIPA	---	AIBN	DMF	14,2 %	---	0,75 %	60 °C	0,107
SIPN 3	1	AA 1	MBAm	V50	Água	10,1 %	0,23 %	0,23 %	50 °C	---
	2	NIPA	---	AIBN	Etanol	16,5 %	---	0,71 %	60 °C	0,127

**Tabela 3.3** – Condições experimentais utilizadas na síntese de redes de polímeros convencionais (CPNs).

Hidrogel	M 1	M 2	CL	I	CAT	Solv.	$C_M$	Razão M1/(M2+M1)	Razão CR/(M1+M2)	Razão I/(M1+M2)	Temp. Síntese	Razão I/CAT	Neut. (%)
CPN 1	NIPA	-	MBAm	APS	TEMED	Água	17,8%	100 %	1,0 %	0,5 %	20 °C	100 %	0
CPN 2	NIPA	MAA	MBAm	APS	TEMED	Água	11,1%	88%	1,0%	0,26%	20 °C	100 %	50
CPN 3	AA	-	MBAm	APS	TEMED	Água	42,6%	100%	1,0%	0,5%	20 °C	100 %	60
CPN 4	DMAEMA	-	MBAm	V50	-	Água	40,0%	100%	0,5%	0,5%	50 °C	-	0

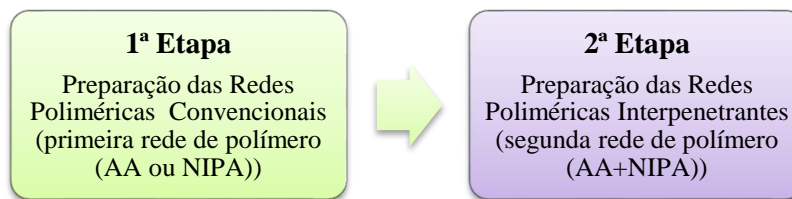
Nota: os hidrogéis CPN 2, CPN 3 e CPN 4 foram sintetizados em trabalhos anteriores deste laboratório [6,50].

Nas experiências realizadas na síntese de redes de polímeros interpenetrantes e semi-interpenetrantes como descritas nas Tabelas 3.1 e 3.2 foram consideradas diferentes combinações de monómeros que potencialmente pudessem gerar hidrogéis estimuláveis por diferentes parâmetros.

Como monómeros principais foram considerados NIPA (gerador de redes de polímero sensíveis à temperatura), AA e DMAEMA (geradores de redes de polímeros sensíveis ao pH), sendo o AA um monómero aniônico e o DMAEMA um monómero catiónico, as redes de AA incham com o aumento do pH e as de DMAEMA têm um comportamento inverso. Na síntese dos IPNs surgiu a possibilidade de obter hidrogéis com sensibilidade combinada a múltiplos estímulos. Portanto, foram sintetizadas redes de polímeros interpenetrantes baseadas em AA/NIPA (sensibilidade combinada ao pH e temperatura), NIPA/DMAEMA (sensibilidade combinada à temperatura e pH) e em AA/DMAEMA (rede polimérica anfotérica carregada de grupos positivos e grupos negativos em simultâneo). O agente reticulante ( $MBA_m$ ) considerado neste trabalho experimental tem como funcionalidade gerar pontos de reticulação tetrafuncionas. A razão molar entre o reticulante e os monómeros varia entre 0,2 a 2%, sendo normalmente considerada esta gama de valores para produzir hidrogéis ligeiramente reticulados. Foram utilizados três sistemas de iniciação em função da gama de temperaturas durante a síntese, o sistema APS/TEMED para polimerização a baixa temperatura (25 °C),  $V_{50}$  e AIBN para polimerização a elevadas temperaturas (50 e 60 °C). A razão entre iniciadores e monómeros foi ajustada de modo a garantir uma velocidade de polimerização razoável.

### 3.3.1. Procedimento Experimental

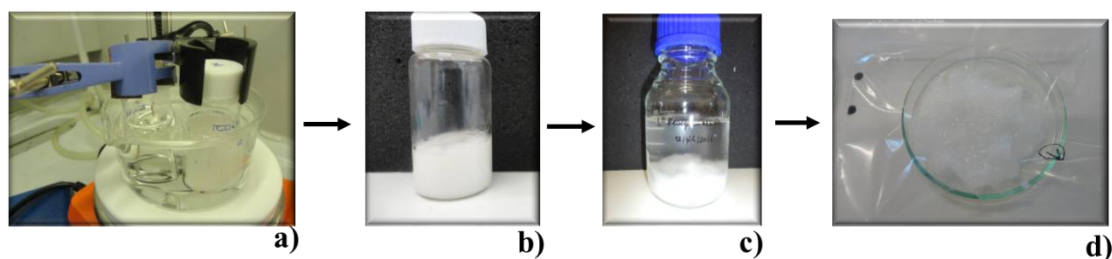
Como já foi referido, a síntese dos IPNs é realizada em duas etapas principais de forma sequencial, ou seja, o hidrogel produzido na primeira etapa (redes poliméricas convencionais) é utilizado na etapa subsequente como ilustra o esquema apresentado na Figura 3.1. Cada etapa será descrita detalhadamente na subsecção seguinte.



**Figura 3.1** – Ilustração das etapas principais na síntese de uma rede de polímero interpenetrante. Foram também consideradas polimerizações envolvendo DMAEMA.

### 3.3.1.1. 1ª Etapa: Síntese das Redes Poliméricas Convencionais

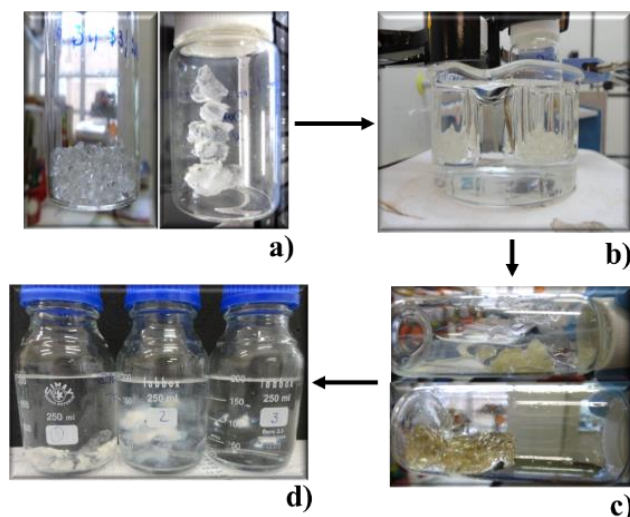
Inicialmente, efetuou-se as diversas pesagens, nomeadamente do monómero (NIPA), da água DI, do catalisador da reação (TEMED), do iniciador (APS) que gera radicais livres e do reticulante ( $MBA_m$ ). De seguida colocou-se numa placa de aquecimento uma tina com água destilada a uma temperatura de 25 °C. O passo seguinte teve como objetivo a dissolução do monómero para tal colocou-se num sistema de ultrassons a massa de monómero com uma pequena quantidade da água DI pesadas previamente. Posteriormente, dissolveu-se tanto o reticulante como o sistema de iniciação (APS+TEMED) na restante água DI. De seguida, o reticulante dissolvido foi adicionado ao frasco que continha o monómero e agitou-se cuidadosamente até obter uma solução/mistura homogénea. O frasco que continha o monómero e o reticulante foi degasificado com argon (durante 3 minutos) para remover o  $O_2$ , uma vez que este pode reagir com o iniciador, diminuindo assim a taxa de conversão de monómero em polímero. Por fim adicionou-se à solução aquosa o sistema de iniciação (APS+TEMED). Iniciou-se assim a síntese da rede polimérica convencional (ver Figura 3.2 a)). A polimerização ocorreu após 6 horas, no entanto usou-se um período de 24 horas para que o monómero fosse totalmente convertido em polímero (ver Figura 3.2 b)). No final das 24 horas, procedeu-se à lavagem do hidrogel sintetizado. Colocou-se 200 mL de água DI num frasco, e adicionou-se o hidrogel sintetizado e assim permaneceu durante um período de 48 horas (ver Figura 3.2 c)). Este passo foi bastante importante, porque à medida que o hidrogel absorveu a água, libertava as impurezas e restos de monómero por reagir presentes no seu interior. Após as 48 horas filtrou-se o hidrogel (ver Figura 3.2 d)) e colocou-se numa estufa de vácuo à temperatura de 50 °C para proceder à sua secagem. Para a síntese da primeira rede polimérica baseada em ácido acrílico adotou-se o procedimento similar ao anterior.



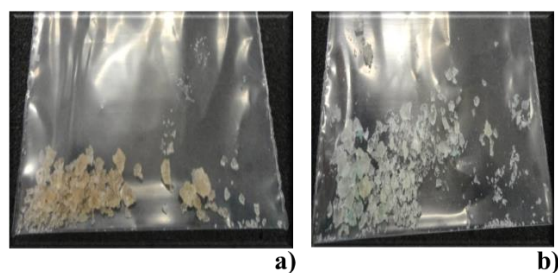
**Figura 3.2** – Ilustração fotográfica do procedimento experimental da síntese da primeira rede polimérica. **a)** Início da reação para formar a primeira rede polimérica (hidrogel); **b)** Hidrogel obtido após 24 horas do início da reação; **c)** Lavagem do hidrogel para eliminar eventuais resíduos, restos de monómeros e agente reticulante que não reagiram; **d)** Hidrogel filtrado para proceder à secagem, para utilização posterior.

### 3.3.1.2. 2<sup>a</sup> Etapa: Síntese das Redes Poliméricas Interpenetrantes

Inicialmente procedeu-se à pesagem dos componentes necessários para a síntese do IPN, tais como, o monómero (AA), o iniciador ( $V_{50}$ ), o reticulante ( $MBA_m$ ) e o solvente (água DI). O passo seguinte teve por objetivo a dissolução do monómero, assim como do reticulante e iniciador, para isso juntou-se o solvente e agitou-se cuidadosamente até se obter uma solução homogénea. De seguida pesou-se uma certa quantidade (previamente calculada) do hidrogel (seco) sintetizado na etapa anterior. Ao frasco que continha a solução aquosa anteriormente preparada juntou-se o hidrogel e assim permaneceu durante 24 horas à temperatura ambiente ( $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), foi o tempo necessário para que o hidrogel absorvesse toda a solução aquosa (ver Figura 3.3 a)). Este passo foi importante no processo de interpenetração, visto que o objetivo foi formar uma rede polimérica dentro da primeira rede sintetizada. Após as 24 horas o hidrogel já inchado foi colocado numa tina com água destilada que se encontrava na placa de aquecimento a uma temperatura de  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , iniciando-se assim a polimerização da segunda rede polimérica durante um período de 24 horas (ver Figura 3.3 b)). Após a finalização do processo de polimerização (ver Figura 3.3 c)) do hidrogel (IPN) procedeu-se à sua lavagem do IPN, colocando-o num frasco com 250 mL de água DI durante um período de 48 horas (ver Figura 3.3 d)). Por fim, o hidrogel foi filtrado e seco numa estufa de vácuo (ver Figura 3.4) para posteriores aplicações experimentais, nomeadamente testes de adsorção e libertação de fármacos.



**Figura 3.3** – Ilustração fotográfica do procedimento experimental da síntese da rede polimérica interpenetrante. **a)** Absorção da solução aquosa (constituída por monómero, agente reticulante e iniciador) para a formação da segunda rede no interior da primeira rede; **b)** Polimerização da segunda rede no interior da primeira rede sintetizada numa fase antecedente; **c)** Rede de polímero interpenetrante obtida após a polimerização; **d)** Lavagem do hidrogel para eliminar eventuais resíduos, restos de monómeros e agente reticulante que não reagiram aquando a polimerização.



**Figura 3.4** – Exemplos de materiais obtidos na síntese de redes de polímeros interpenetrantes. **a)** Rede de polímero interpenetrante (IPN 4) baseado em AA e NIPA; **b)** Rede de polímero semi-interpenetrante baseada em AA e NIPA (SIPN 1).

### 3.4. Caracterização da Razão de Inchamento das Redes Convencionais Obtidas

Estes testes foram realizados porque no decorrer da 2<sup>a</sup> etapa surgiram algumas dificuldades, nomeadamente na escolha do solvente apropriado. Note-se por exemplo que um dos iniciadores utilizados (AIBN) é insolúvel em água. O solvente foi um elemento importante na preparação da segunda rede polimérica, porque foi utilizado para dissolver os outros constituintes, tais como, monómeros, agentes reticulantes tal como na síntese da primeira rede polimérica. Adicionalmente, foi necessário garantir que o solvente escolhido provoque o inchamento da primeira rede para que haja iniciação das espécies químicas para o seu interior, de modo a potenciar a interpenetração. De modo a solucionar esta dificuldade, numa primeira fase estudou-se

a razão de inchamento da primeira rede polimérica baseada em ácido acrílico somente com os solventes. Este passo tornou-se importante porque foi necessário que toda a solução aquosa preparada fosse absorvida pela primeira rede polimérica e que não incha-se em demasia, caso contrário o processo de interpenetração adotado não foi efetuado com sucesso. Os testes realizados estão representados nas Tabelas 3.4 a 3.7.

**Tabela 3.4** – Razão de inchamento da primeira rede polimérica (AA 1) em diferentes solventes puros.

Solvente	Água	THF	DMF	Etanol	Acetona
SR	>100	10	84	46	>100

**Tabela 3.5** – Razão de inchamento da primeira rede polimérica (AA 1) em diferentes solventes (misturas 50/50).

Solvente	Água/THF (50/50)	Água/DMF (50/50)	Água/Etanol (50/50)
SR	69	>87	58

**Tabela 3.6** – Razão de inchamento da primeira rede polimérica (AA 1) em diferentes solventes (misturas 25/75).

Solvente	Água/THF (25/75)	Água/DMF (25/75)	Água/Etanol (25/75)
SR	57	78	55

**Tabela 3.7** – Razão de inchamento da primeira rede polimérica (AA 1) em diferentes solventes (misturas 10/90).

Solvente	Água/THF (10/90)	Água/DMF (10/90)	Água/Etanol (10/90)
SR	42	---	---

Após os estudos efetuados conclui-se que os solventes puros (DMF, THF e Etanol) foram os mais adequados para preparar a solução da segunda rede polimérica que tivessem por base o iniciador AIBN. Estes três solventes provocam uma razão de inchamento razoável relativamente à mistura de solventes.

### 3.5. Considerações Finais

Em resumo, neste capítulo são apresentados os resultados obtidos na síntese de redes de polímero interpenetrantes. Descreve-se, de forma simples, o procedimento experimental adotado na síntese de diferentes tipos de IPNs com sensibilidade combinada à temperatura e ao pH. Para esse efeito foram considerados três monómeros de base, nomeadamente a NIPA (conferindo às redes de polímero sensibilidade à temperatura),

AA (gerador de redes aniônicas sensíveis ao pH) e DMAEMA (gerador de redes catiónicas sensíveis ao pH). Em resultado dos diferentes processos de interpenetração realizados, foram obtidos IPNs do tipo NIPA/NIPA, AA/NIPA, NIPA/AA, AA/DMAEMA e NIPA/DMAEMA, conforme descrito na Tabela 3.1. Adicionalmente, foram também sintetizadas redes semi-interpenetrantes do tipo AA/NIPA (ver Tabela 3.2). Foram descritas algumas dificuldades encontradas durante o processo de interpenetração das redes de polímero, relacionadas nomeadamente com a escolha do solvente apropriado à segunda etapa de síntese em função das condições de polimerização consideradas (segundo monómero usado, tipo de iniciador, temperatura de polimerização, etc). Note-se que nesta segunda etapa é importante estimar o inchamento da primeira rede no solvente selecionado, de modo a garantir que toda a solução usada para a formação da segunda rede (monómero + iniciador + reticulante + solvente) seja absorvida pelo material de partida. Desta forma é aumentada a eficiência de interpenetração, evitando a formação de domínios de uma só rede na estrutura do IPN. Em resultados dos estudos efetuados, para além da água, THF, DMF, etanol foram também considerados como solventes no processo de formação de IPNs (ver Tabelas 3.4 a 3.7).

Os diferentes IPNs sintetizados neste trabalho serão avaliados em termos do seu desempenho na adsorção e libertação de fármacos estimulada pelas condições envolventes, nomeadamente o pH e a temperatura (estímulos biológicos importantes). Para esse efeito, será medida a sua razão de inchamento em soluções aquosas com diferentes valores de pH/T. Estas medições permitem avaliar o grau de estimulação dos IPNs provocada pela alteração da sua envolvência. A eficiência do processo de interpenetração será estimada através de análises FTIR dos IPNs e da sua comparação com as redes individuais de partida. A capacidade de retenção/libertação de fármacos será medida através da realização de testes de adsorção em modo *batch* e por análise frontal (modo contínuo). Procurar-se-á comparar o desempenho dos IPNs aqui sintetizados com hidrogéis convencionais também sensíveis a estímulos (hidrogéis inteligentes) como o pH e a temperatura. Para esse efeito serão considerados materiais anteriormente sintetizados por este grupo de investigação, nomeadamente aqueles descritos na Tabela 3.3. Todos estes estudos serão apresentados nos próximos capítulos desta tese.

## Capítulo 4 - Testes de Caracterização dos IPNs

### 4.1. Introdução

Neste capítulo apresentam-se os resultados experimentais referentes aos testes de caracterização dos materiais sintetizados no capítulo anterior. Numa primeira fase estudou-se a sensibilidade dos IPNs a estímulos como a temperatura e o pH, visto que os materiais sintetizados podem-se comportar como aniônicos, catiónicos, anfotéricos e sensíveis à temperatura. Neste contexto, foram efetuadas as medições da razão de inchamento (SR) estimuladas por alterações das condições das soluções aquosas onde se encontravam colocados, nomeadamente a temperatura e o pH.

Os testes dos IPNs aqui apresentados têm como objetivo identificar os hidrogéis com maior grau de sensibilidade às variações impostas de modo a tentar estimular esses materiais nos testes de adsorção de fármacos em modo *batch* que serão descritos no capítulo 5 deste trabalho.

Outra forma utilizada para caracterizar os IPNs foi através da técnica FTIR. Recorreu-se a esta técnica para identificar a estrutura química (grupos funcionais ou ligações covalentes) dos IPNs de modo a confirmar se ocorreu interpenetração aquando a polimerização das redes poliméricas.

### 4.2. Procedimento Experimental

Inicialmente preparou-se as soluções aquosas, pH ácido (2,02), pH neutro (7,54) e pH alcalino (10,17), recorrendo para isso a protocolos já existentes. Os valores efetivos do pH das soluções aquosas foram medidos utilizando um eletrodo pH (SCHOTT). Outros valores de pH referidos durante este trabalho tiveram por base o mesmo procedimento. Nos testes realizados foram consideradas diferentes temperaturas, 20 °C (temperatura ambiente) e 40 °C. Para tal, foi necessário preparar banhos de água com o auxílio de uma placa de aquecimento e o respetivo termopar. De seguida, foram feitas as pesagens dos hidrogéis, cerca de 30 mg, recorrendo a uma balança analítica. Colocou-se o hidrogel e cerca de 2 mL de cada solução aquosa num tubo *ependorf*. Seguidamente, algumas amostras ficaram à temperatura ambiente (20 °C) e as outras foram colocadas nos banhos termostáticos, durante um período de 24 hr, considerou-se este período de tempo como sendo suficiente para que fosse atingido o estado de equilíbrio (saturação do hidrogel e a obtenção do seu inchamento máximo). Posteriormente, retirou-se o

excesso de solução tampão de pH e procedeu-se à pesagem da massa de hidrogel inchado. A razão de inchamento é obtida pela divisão da massa do hidrogel inchado com a massa do hidrogel seco (massa inicial), como se pode verificar na equação 4.1.

$$SR = \frac{\text{massa de hidrogel inchado}}{\text{massa do hidrogel seco}} \quad (4.1)$$

As quantidades de massa de hidrogel utilizadas e a medição da razão de inchamento conforme o meio onde se encontrava colocado pode ser consultado nos Anexos 4, 5 e 6.

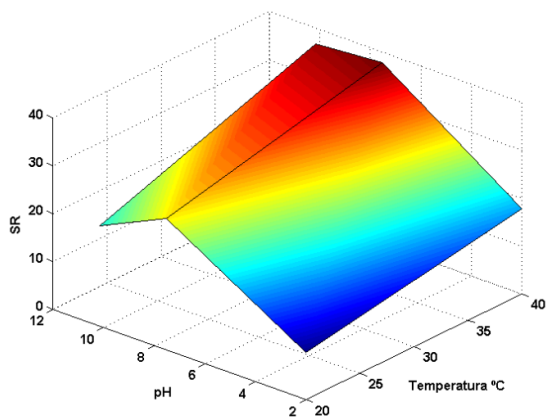
### **4.2.1. Sensibilidade dos IPNs à Variação da Temperatura e do pH**

Nesta subsecção são apresentados os resultados obtidos nos testes de sensibilidade dos IPNs à variação da temperatura e do pH.

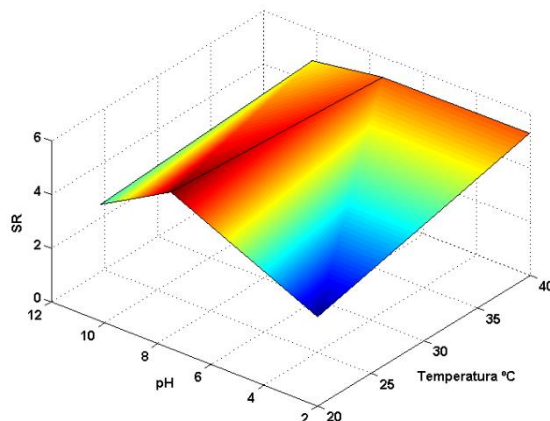
Nas Figuras 4.1, 4.2 e 4.3 mostra-se o efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento da primeira rede polimérica (rede convencional), uma baseada em ácido acrílico (sensível ao pH) e outra baseada em NIPA (sensível à temperatura).

Por observação das Figuras 4.1 e 4.2 verifica-se que existe um aumento gradual da razão de inchamento, estes resultados mostram que o inchamento do hidrogel evolui à medida que o pH se altera (de ácido para alcalino), estas redes poliméricas apresentam carácter aniónico conferido pela presença de ácido acrílico na sua estrutura. Contudo, é de salientar que a razão de inchamento do gráfico ilustrado na Figura 4.2 torna-se mais baixa que o da Figura 4.1 devido ao agente reticulante. Quanto mais reticulada for a rede mais baixa é a razão de inchamento (o hidrogel AA 1 foi sintetizado com 0,23 % de CL e o AA 2 com 1,27 % de CL, conforme descrito na Tabela 3.1).

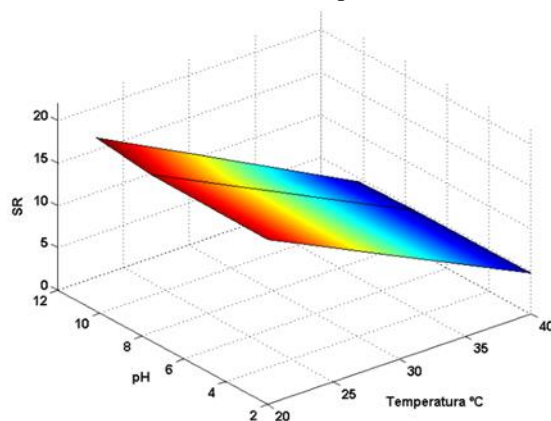
Na Figura 4.3 é possível observar que este hidrogel (rede polimérica convencional baseada em NIPA) apresenta-se inchado a temperaturas na gama dos 20 °C (SR na ordem dos 20) e que a sua razão de inchamento diminui progressivamente com o aumento da temperatura, verificando-se o colapso do hidrogel (contração da SR na ordem dos 4) a cerca de 40 °C.



**Figura 4.1** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da primeira rede polimérica (rede convencional AA 1). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.

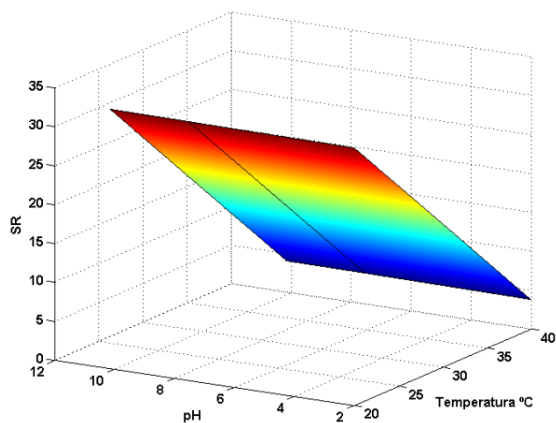


**Figura 4.2** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da primeira rede polimérica (rede convencional AA 2). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.

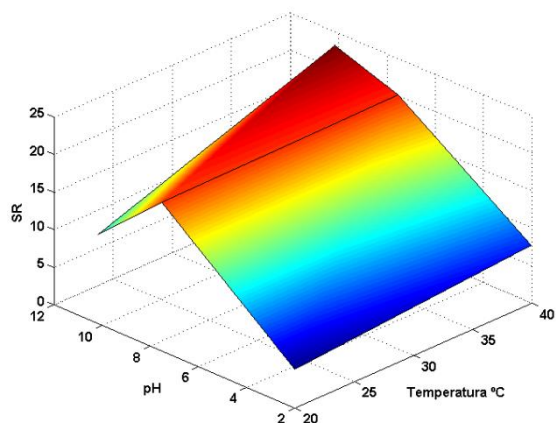


**Figura 4.3** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da primeira rede polimérica (rede convencional NIPA). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.

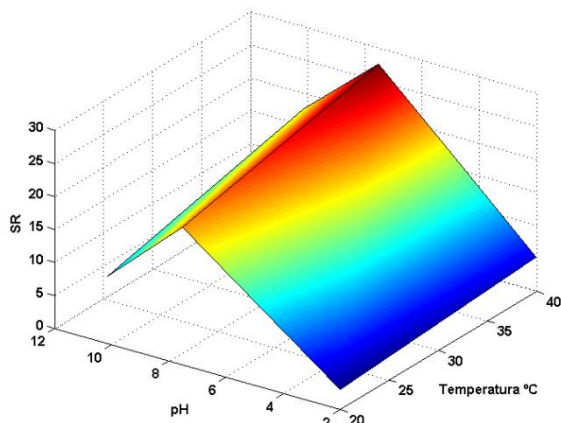
A Figura 4.4 apresenta o mesmo perfil que a primeira rede polimérica (ver Figura 4.3), o hidrogel IPN 1 é baseado na primeira rede polimérica (NIPA) e numa segunda rede baseada também em NIPA, logo a razão de inchamento diminui com o aumento da temperatura levando ao colapso do material. A elevada sensibilidade deste hidrogel à temperatura (numa gama compatível com a fisiologia do corpo humano) proporciona a sua consideração em aplicações biomédicas, nomeadamente na libertação controlada de fármacos. Nas Figuras 4.5 a 4.10 apresentam-se estudos análogos para o IPN 2 a 7. Os resultados obtidos mostram a estimulação simultânea dos materiais pelo pH/T, embora o efeito do pH pareça prevalecer sobre a razão de inchamento dos IPNs.



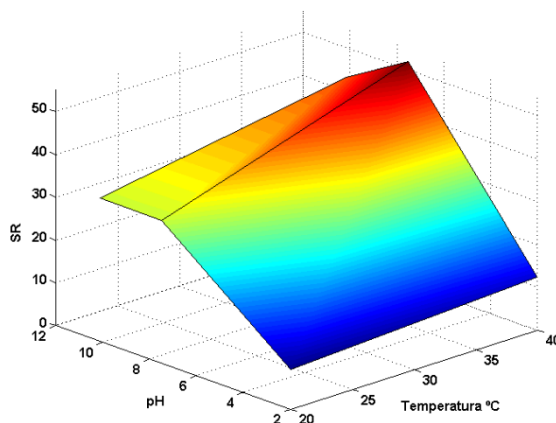
**Figura 4.4** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 1). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.



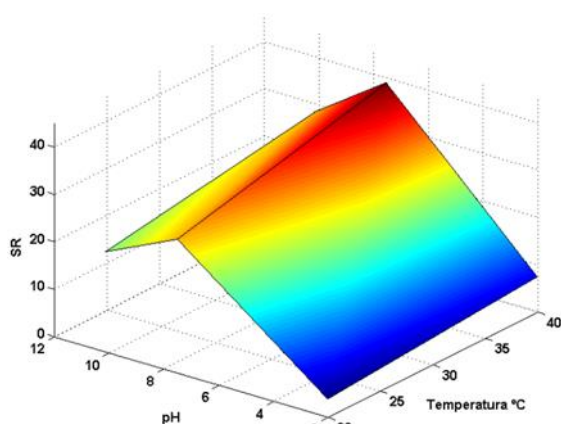
**Figura 4.5** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 2). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.



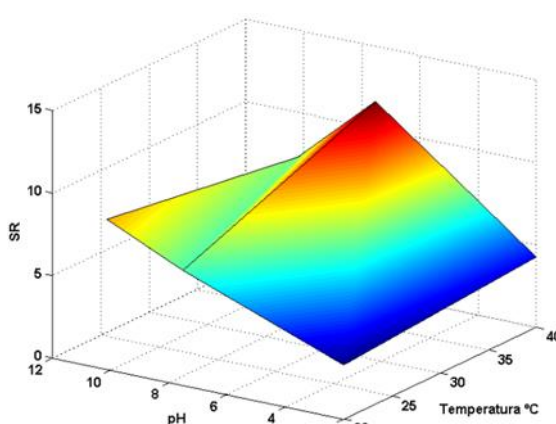
**Figura 4.6** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 3). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.



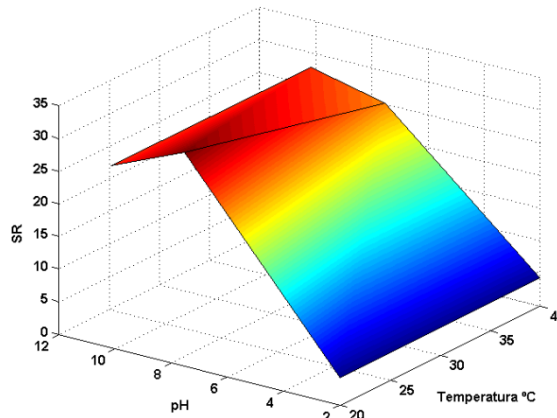
**Figura 4.7** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 4). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.



**Figura 4.8** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 5). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.



**Figura 4.9** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 6). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.



**Figura 4.10** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica interpenetrante (IPN 7). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.

As redes de polímero semi-interpenetrantes apresentam razões de inchamento baixas a pH 2 e a uma temperatura de 40 °C (ver Anexos 7, 8 e 9). Ao contrário das redes poliméricas convencionais os hidrogéis SIPNs tal como os IPNs conseguem responder a estímulos de forma simultânea, isto deve-se à sua composição química, apresentam sensibilidade à temperatura conferida pela presença da NIPA e carácter aniónico conferido pela presença do AA. Note-se que o inchamento dos hidrogéis é fortemente influenciado pela força iónica e não só pelo pH.

### 4.3. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

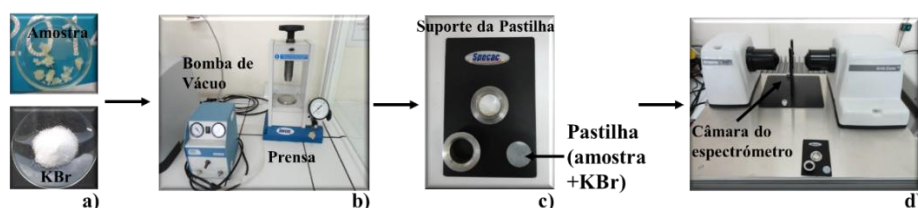
A espectroscopia por infravermelho utiliza a radiação infravermelha para identificar compostos ou investigar a composição de uma amostra, por meio da deteção de transições energéticas situadas na região do infravermelho. As ligações químicas presentes nas moléculas apresentam frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula. Nesta técnica a amostra a ser analisada recebe radiação na forma de um feixe de luz infravermelha. No entanto só haverá a absorção de radiação quando a amostra receber radiação com a mesma energia correspondente aos níveis vibração da molécula, formando assim um espectro, onde é possível identificar grupos funcionais e ligações covalentes. Esta técnica é bastante útil e utilizada na caracterização estrutural de polímeros [51,52].

Neste trabalho a técnica FTIR foi utilizada para a caracterizar os monómeros puros, assim como para avaliar a estrutura dos materiais sintetizados no capítulo 3 (IPNs e SIPNs). Com a identificação dos grupos funcionais nos materiais sintetizados podemos

analisar se o polímero final é o esperado, ou seja, se os monómeros puros foram totalmente convertidos no processo de polimerização e se o processo de interpenetração foi eficiente.

### 4.3.1. Procedimento Experimental

Efetuuou-se a análise FTIR de uma pequena amostra (2-4 mg) de cada material sintetizado no capítulo anterior. Cada amostra foi previamente seca numa estufa de vácuo a uma temperatura de 50 °C e posteriormente triturada num almofariz para se obter um pó fino. O pó foi misturado com uma pequena quantidade de KBr (175-225 mg) num almofariz de pedra de ágata até se obter uma mistura homogénea. A mistura foi prensada (ver Figura 4.11 b)) sob a forma de pastilha sendo posteriormente colocada no respetivo suporte (ver Figura 4.11 c)) na câmara do espectrómetro FTIR *ABB BOMEM Arid-Zone™* (ver Figura 4.11 d)). Os espectros foram obtidos em modo transmitância e o intervalo de varrimento utilizado foi de 600-4000  $\text{cm}^{-1}$ .

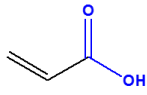
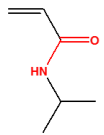


**Figura 4.11** – Ilustração esquemática do procedimento desenvolvido para a obtenção dos espectros. **a)** Amostra do material que se pretende analisar e uma pequena quantidade de KBr (solvente inerte, não absorve radiação infravermelha). Este é utilizado para a realização da mistura assim facilitar a obtenção de uma amostra homogénea; **b)** Bomba de vácuo é utilizada para reduzir a pressão entre os dois cilindros metálicos onde se encontra a mistura homogénea. A prensa é utilizada para criar um peso de pelo menos de 8 toneladas durante 3 minutos sobre os dois cilindros metálicos para formar a pastilha que terá um aspeto vítreo; **c)** Suporte para colocar a pastilha, posteriormente será colocado na câmara do espectrómetro; **d)** Equipamento para a obtenção dos espectros.

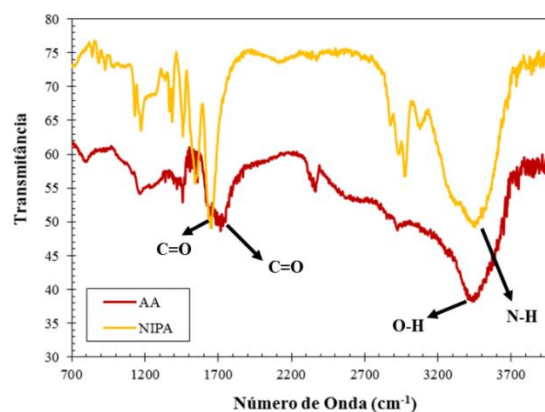
### 4.3.2. Análise dos Espectros Obtidos

Como já foi referido, os espectros por infravermelho foram realizados com o intuito de identificar os grupos funcionais presentes nos materiais após o processo de polimerização. Na realização deste trabalho foram utilizados monómeros como a NIPA e o ácido acrílico (AA), sendo que os grupos funcionais presentes são as amidas no caso da NIPA e o ácido carboxílico no caso do AA. Os espectros de infravermelhos dos monómeros puros [53] podem ser consultados nos anexos (ver Anexos 10 e 11) deste trabalho. Na tabela 4.1 apresenta-se a região/banda de absorção destes grupos funcionais no espectro.

**Tabela 4.1** – Região/Banda de absorção dos grupos funcionais presentes nos compostos utilizados [52].

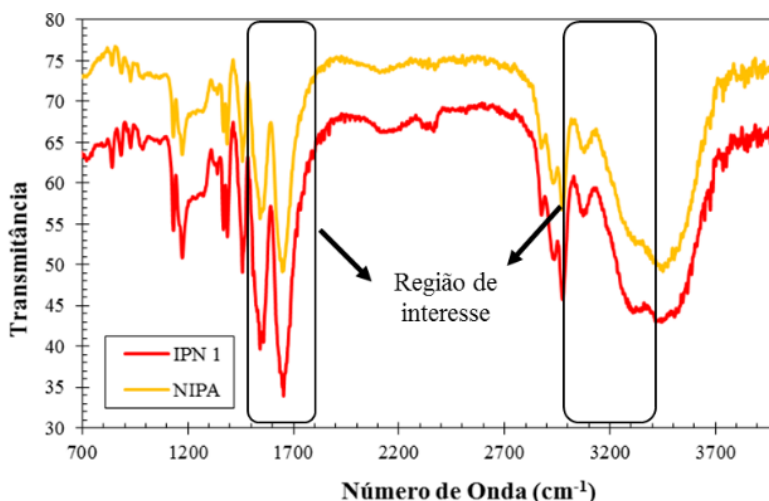
Grupo Funcional Monómeros	Região/Banda de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ )	Tipo de vibração (causada pela absorção de IR)
<p>Ácidos Carboxílicos</p>  <p>AA</p>	3400-2400 (este pico abrange sempre toda a região com um pico amplo)	Ligação O-H (alongamento)
	1730-1650	Ligação C=O (alongamento)
<p>Amidas</p>  <p>NIPAA</p>	3500-3100	Ligação N-H (alongamento)
	1670-1600	Ligação C=O (alongamento)
	1640-1550	Ligação N-H (dobra)

Com base na Tabela 4.1 e nos espectros dos monómeros puros (ver Anexos 7 e 8), são identificados os grupos funcionais nos espectros da primeira rede de polímero (rede convencional) baseada em ácido acrílico (AA) e também da primeira rede polímero (rede convencional) baseada em NIPAA (ver Figura 4.12), estes espectros tem por objetivo o reconhecimento posterior dos mesmos grupos em redes de polímeros interpenetrantes e semi-interpenetrantes. Os espectros da NIPAA e do ácido acrílico apresentam bandas de absorção perceptíveis na região de interesse (região correspondente aos grupos funcionais de cada composto).



**Figura 4.12** – Espectro FTIR das duas primeiras redes poliméricas, uma baseada em ácido acrílico e outra baseada em NIPAA. No espectro AA é possível visualizar um pico na banda de absorção (1770-1650) que corresponde à ligação C=O, e é também observado um pico mais acentuado na região de absorção (3400-2400) corresponde à ligação O-H. Relativamente ao espectro da NIPAA também é possível observar os picos característicos presentes nas bandas de absorção correspondentes à ligação C=O e à ligação N-H. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ .

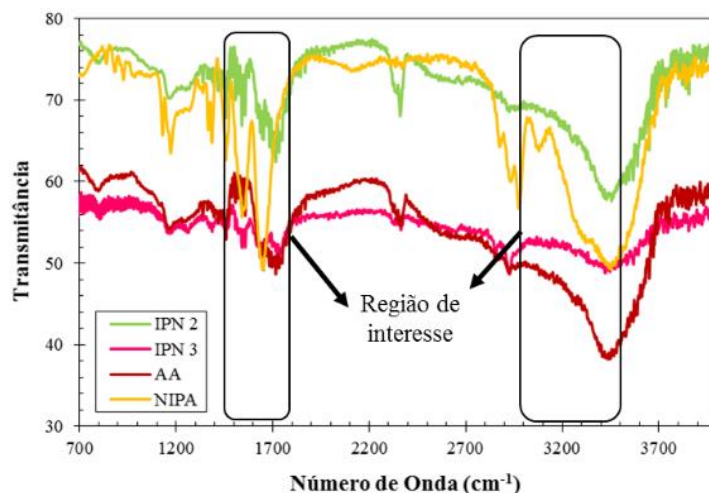
Na Figura 4.13 são mostrados os espectros FTIR relativos ao hidrogel IPN 1 em comparação à primeira rede polimérica (rede convencional NIPA). Por observação do espectro do IPN 1 verifica-se que apresenta picos acentuados nas regiões de absorção características à rede convencional de NIPA, assim sendo grupo funcional da NIPA está presente no IPN 1, no entanto, apresenta picos mais alongados que o espectro da rede convencional de NIPA. Este resultado está de acordo com a constituição química do hidrogel IPN 1.



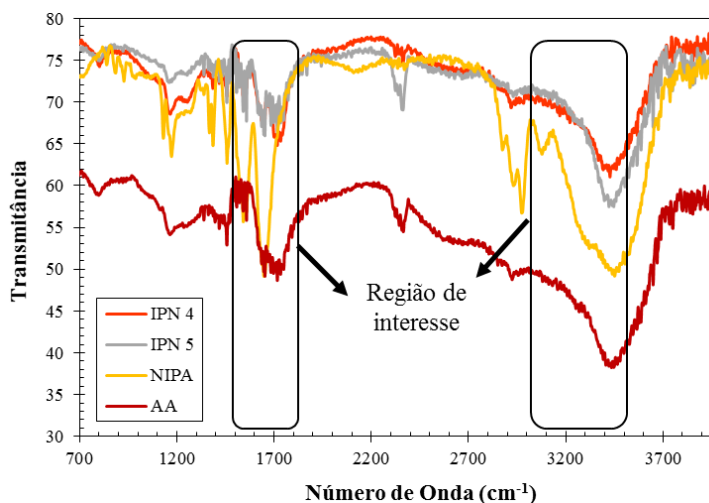
**Figura 4.13** – Comparação do espectro FTIR do IPN 1 (NIPA+NIPA) com a rede convencional (NIPA). As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas) presentes nas amostras. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ .

Nas Figuras 4.14, 4.15 e 4.16 são exibidos os espectros FTIR de hidrogéis IPNs com a mesma composição química, ou seja, ambos são compostos por uma rede convencional baseada em ácido acrílico e uma rede polimérica baseada em NIPA. Os espectros dos IPNs são comparados com o respetivo espectro de cada uma das redes referidas anteriormente. O objetivo desta comparação é verificar de um modo geral se os IPNs na sua composição química apresentam os grupos funcionais correspondentes aos monómeros puros. Portanto, comparando os espectros conclui-se que todos os espectros dos hidrogéis IPNs em análise apresentam picos uns mais acentuados que outros nas regiões típicas de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes em cada composto individual (monómero de ácido acrílico e monómero de NIPA). No entanto, é de salientar que o espectro FTIR do IPN 3 é o que apresenta picos pouco significativos relativamente aos outros espectros dos IPNs.

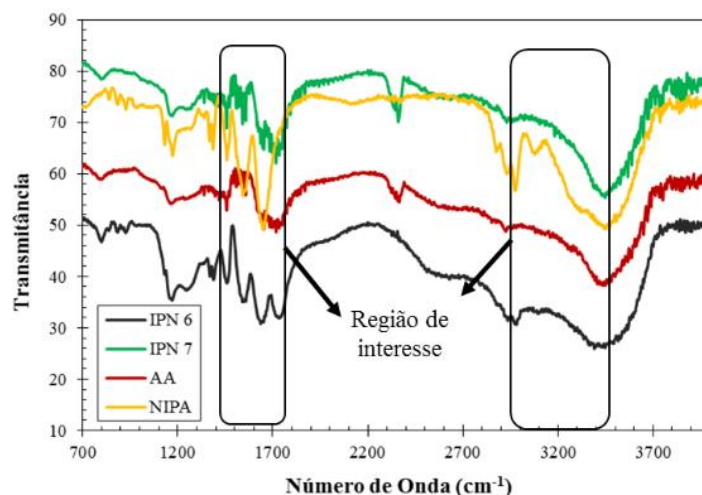
Também foram realizados espectros FTIR para caracterizar as redes poliméricas semi-interpenetrantes, tendo-se chegado a conclusões semelhantes às obtidas com as dos IPNs. Os espectros SIPNs apresentam picos nas regiões de absorção, correspondentes aos grupos funcionais presentes nos monómeros puros. Os espectros dos SIPNs podem ser consultados nos anexos deste trabalho (ver Anexos 12, 13 e 14).



**Figura 4.14** – Comparação do espectro FTIR do IPN 2 e IPN 3 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes nas amostras. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 4.15** – Comparação do espectro FTIR do IPN 4 e IPN 5 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes nas amostras. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 4.16** – Comparação do espectro FTIR do IPN 6 e IPN 7 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes nas amostras. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença de água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ .

Em suma, os espectros FTIR apresentados levam a concluir que o processo de interpenetração ocorreu em todos os IPNs e SIPNs sintetizados. No entanto, é de referir que alguns dos hidrogéis apresentam zonas com NIPA mais concentrada ou zonas com AA mais concentrado, isto deve-se facto do processo de interpenetração ser mais ativo numas zonas do que em outras, podendo portanto não ser uniforme.

## 4.4. Considerações Finais

Neste capítulo apresentaram-se os resultados de caracterização dos IPNs e SIPNs sintetizados nesta investigação, nomeadamente em termos da variação da razão de inchamento (SR) dos materiais quando colocados em soluções aquosas com diferentes valores de pH/T e da sua composição química (neste caso através de análise FTIR).

As medições de SR efetuadas mostram que estes materiais podem ser efetivamente estimulados através da variação das condições da sua envolvente, nomeadamente o pH/T de soluções aquosas (parâmetros importantes em aplicações biomédicas). Para redes NIPA foi demonstrado o seu colapso à medida que a temperatura é aumentada de 20 para 40 °C, sendo conhecida a existência de uma transição brusca por volta de 36 °C (o que justifica o potencial interesse destes materiais em biomedicina). O pH tem um efeito reduzido no inchamento/colapso de redes NIPA. Para redes aniónicas baseadas em AA, foi demonstrada a sua enorme estimulação por efeito de pH, passando os materiais de um estado colapsado a pH ácido (ex. pH=2) para estados de elevado

inchamento quando o pH é aumentado (foi observado um máximo no seu inchamento a pH próximo de 8). Esta estimulação pode ser potenciada em aplicações biomédicas onde se verifiquem transições de pH, como por exemplo no sistema digestivo (meio fortemente ácido no estômago e pH ligeiramente alcalino no intestino). Os testes de SR realizados com os IPNs AA/NIPA sintetizados mostram a possibilidade de estimulação combinada dos materiais pelo pH/T, como ambicionado através do processo de interpenetração de redes com sensibilidades diferentes. Deve no entanto referir-se que, para os IPN sintetizados, o efeito da estimulação pelo pH sobrepõe-se claramente à estimulação pela temperatura. Em teoria será possível obter IPNs com efeito equilibrado dos dois parâmetros através da modificação da composição do material final. Para isso sugere-se a síntese de novos IPNs AA/NIPA com menor composição em AA de forma a potenciar a resposta conjunta ao pH/T.

Foi aqui também apresentada a comparação da análise FTIR de diferentes materiais, nomeadamente das redes individuais de AA e NIPA (e respetivos monómeros de partida) e dos IPNs resultantes do entrelaçamento desses tipos de materiais. Os resultados mostrados parecem indicar que na maioria dos casos o processo de interpenetração das redes terá ocorrido de forma eficiente. No entanto, não é de excluir a ocorrência de interpenetração não-homogénea no espaço, levando à formação no material IPN final de domínios onde uma rede prevalece relativamente à outra. Deve também referir-se que através da técnica FTIR não é possível avaliar esta heterogeneidade do processo de interpenetração (é analisada uma mistura moída juntando eventuais diferentes domínios do material) sendo necessário recorrer a métodos suplementares de caracterização.

Os resultados aqui apresentados, nomeadamente a sensibilidade descrita das redes IPNs aos parâmetros envolventes, serão explorados nos próximos capítulos no contexto da adsorção e libertação estimulada de fármacos.



## **Capítulo 5 - Determinação de Isotérmicas de Adsorção de Fármacos em IPNs considerando Operação *Batch* (Sistema Fechado)**

### **5.1. Introdução**

Neste capítulo são apresentados conceitos teóricos no que diz respeito às isotérmicas da adsorção de fármacos, assim como a descrição dos testes experimentais realizados ao longo do estudo. Também será feita a modelação matemática dos dados experimentais, considerando isotérmicas teóricas para averiguar o processo de adsorção do fármaco pelo hidrogel (IPN) e verificar qual dos modelos se ajusta melhor aos dados experimentais. Por fim, são apresentados os resultados obtidos e feita a sua discussão.

### **5.2. Conceitos Teóricos sobre Isotérmicas de Adsorção**

A adsorção física pode ser definida como um fenómeno superficial em que um soluto (no presente trabalho um fármaco) é retido de forma reversível na superfície de um sólido (foram para esse efeito utilizados CPNs e IPNs nesta investigação). Este fenómeno é potenciado por forças de interação entre o soluto e o sólido (fármaco/hidrogel) que geram a formação de camadas (simples ou múltiplas) do primeiro sobre a superfície do segundo. Esta interação pode ser devido a forças de Van der Waals ou ao efeito cargas eletrostáticas, por exemplo. O adsorvente (sólido) pode assim ser utilizado para aumentar a concentração de um soluto (adsorbato) sobre a sua superfície, de forma reversível, ou seja, é também possível (em princípio) fazer posteriormente a sua dessorção (libertação) a partir dessa mesma superfície. Para esse efeito deve ser potenciada a quebra das ligações físicas entre soluto/sólido. O processo de adsorção é favorecido quando o adsorvente possui uma elevada área específica (área superficial por unidade de volume) e/ou um grande volume de microporos [54,55].

O mecanismo de adsorção de equilíbrio baseia-se na existência de diferentes afinidades entre diferentes solutos e adsorventes, gerando seletividades específicas soluto/adsorvente que podem ser exploradas na prática para (por exemplo) separar componentes presentes numa solução, purificar uma corrente (líquida ou gasosa) contendo um componente nocivo ou para concentrar um soluto num meio sólido (ex. carregamento de um fármaco numa matriz de polímero). Neste trabalho, é explorada a

adsorção diferentes biomoléculas (ex. fármacos) em diferentes tipos de hidrogéis (CPNs e IPNs) [54,55].

### 5.2.1. Equilíbrio de Adsorção e Isotérmicas mais comuns

A operação em sistema fechado (*batch*) é a forma mais simples de medição das isotérmicas de equilíbrio de adsorção. Estas isotérmicas de adsorção, em sistemas sólido/líquido (como considerado neste trabalho), traduzem as quantidades de soluto adsorvidas quando o adsorvente é colocado numa solução com uma determinada concentração, sendo o sistema mantido a temperatura constante. É necessário que o processo de adsorção decorra durante um período de tempo suficientemente longo para que o sistema atinja o estado de equilíbrio (daí a designação equilíbrio de adsorção). Nestes pressupostos, o sólido irá atingir o estado de saturação, a que corresponde a quantidade máxima de soluto que é capaz de adsorver nas condições consideradas (ex. temperatura, concentração inicial da solução). No presente trabalho, os testes de adsorção foram realizados considerando períodos de tempo de pelo menos 24 hr.

Classicamente [55-58], são utilizados diferentes modelos matemáticos para descrever a relação entre a quantidade de soluto adsorvida pelo sólido no equilíbrio ( $Q_e$ ) e a correspondente concentração na solução circundante ( $C_e$ ). Consideremos as seguintes definições:

$Q_e$  – quantidade de soluto (ex. mg de fármaco) adsorvida no equilíbrio por unidade de massa de sólido (ex. g de hidrogel).

$C_e$  – concentração de soluto na solução no estado de equilíbrio (ex. mM de fármaco numa solução aquosa).

A isotérmica de **Langmuir** é uma das formas mais comuns de descrever o equilíbrio de adsorção e tem como pressuposto a formação de uma camada simples de soluto na superfície do sólido. A isotérmica de Langmuir é descrita pela seguinte Equação 5.1:

$$Q_e = Q_{max} \frac{K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (5.1)$$

Sendo  $Q_{max}$  a quantidade máxima adsorvida de modo a formar uma camada simples de soluto na superfície do sólido e  $K_L$  a razão entre as constantes cinéticas de adsorção e dessorção [59].

A isotérmica de **Freundlich** é uma fórmula empírica que considera o adsorvente com superfície heterogénea e formação de multicamadas pelo soluto, é descrita pela seguinte forma o equilíbrio de adsorção, Equação 5.2:

$$Q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (5.2)$$

Em que  $K_F$  é o coeficiente de adsorção, relacionado com a capacidade do adsorvente, e  $n$  um parâmetro de ajuste [59].

A isotérmica de **Langmuir-Freundlich (Sips)** surge como combinação dos dois modelos anteriores, ou seja, é uma fórmula empírica que leva em consideração a heterogeneidade da superfície do adsorvente e as interações entre as moléculas adsorvidas, pode ser descrita pela seguinte Equação 5.3:

$$Q_e = Q_{max} \frac{K_{LF} C_e^{1/n}}{1 + K_{LF} C_e^{1/n}} \quad (5.3)$$

Em que os parâmetros  $Q_{max}$  e  $K_{LF}$  possuem o mesmo significado que a isotérmica de Langmuir. Já o  $n$  é um parâmetro empírico que indica a heterogeneidade do adsorvente. Quando  $n = 1$ , o modelo proposto reduz-se ao modelo de Langmuir [59].

Esta modificação dos modelos anteriores tenta corrigir algumas limitações que lhes são inerentes, nomeadamente o facto da isotérmica de Freundlich não prever um valor máximo da quantidade adsorvida para elevadas concentrações da solução. É aqui considerado, ao contrário da isotérmica de Langmuir, que uma molécula adsorvida pode ocupar  $n$  sítios ativos (superfícies não ideais).

A isotérmica de **Redlich-Peterson (RP)** combina também elementos das isotérmicas de Langmuir e de Freundlich, considerando um mecanismo de adsorção híbrido sem utilização do conceito de camada simples ideal. Este modelo é descrito pela seguinte Equação 5.4:

$$Q_e = \frac{K_{RP} C_e}{1 + A_{RP} C_e^g} \quad (5.4)$$

Onde  $K_{RP}$  e  $A_{RP}$  são constantes ajustáveis da equação de RP, e o parâmetro  $g$  assume valores entre 0 e 1, sendo que para  $g = 1$  a equação converte-se numa isotérmica de Langmuir [60].

A isotérmica de **Brunauer, Emmett e Teller (BET)** introduz um mecanismo de adsorção em multicamadas e é descrita pela Equação 5.5:

$$Q_e = Q_{max} \frac{K_{BET} C_e}{(C_S - C_e) \left[ 1 + (K_{BET} - 1) \frac{C_e}{C_S} \right]} \quad (5.5)$$

Sendo  $C_S$  a concentração de saturação (limite de solubilidade) do soluto no líquido, e  $K_{BET}$  um parâmetro relacionado com a intensidade de ligação para todas as camadas [61].

### 5.2.2. Medição Experimental de Isotérmicas *Batch* e Linhas de Operação

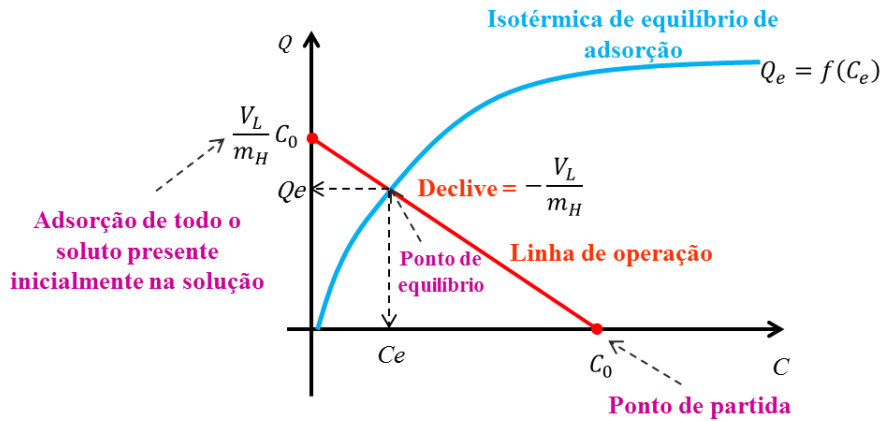
Nos estudos de adsorção em modo *batch* aqui realizados, os dados de equilíbrio foram obtidos a partir de uma dada massa de hidrogel (adsorvente) isenta de soluto, que designaremos por  $m_H$ , e um volume de solução aquosa ( $V_L$ ) contendo fármaco com concentração  $C_0$ . Deste estado inicial, a mistura evolui para o equilíbrio, com transferência de soluto da fase líquida para a fase sólida, verificando-se a seguinte relação (conservação de soluto):

$$C_0 V_L = C V_L + m_H Q \quad (5.6)$$

Esta Equação 5.6 representa a linha de operação e pode ser rearranjada da seguinte forma, Equação 5.7:

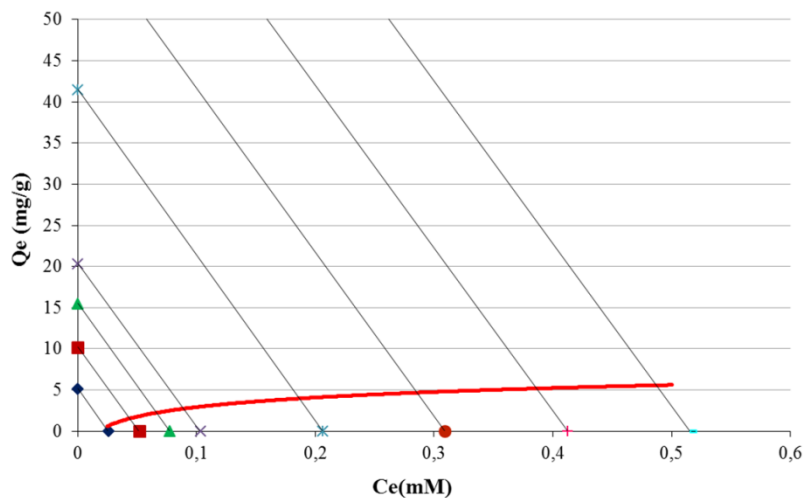
$$Q = \frac{V_L}{m_H} (C_0 - C) \quad (5.7)$$

Se num mesmo gráfico (ver Figura 5.1) representarmos a isotérmica de adsorção (relação entre  $C_e$  e  $Q_e$ , conforme descrito pelos modelos anteriores) e também a linha de operação (Equação 5.7), fica claro que o estado de equilíbrio corresponde à interseção destas duas linhas.

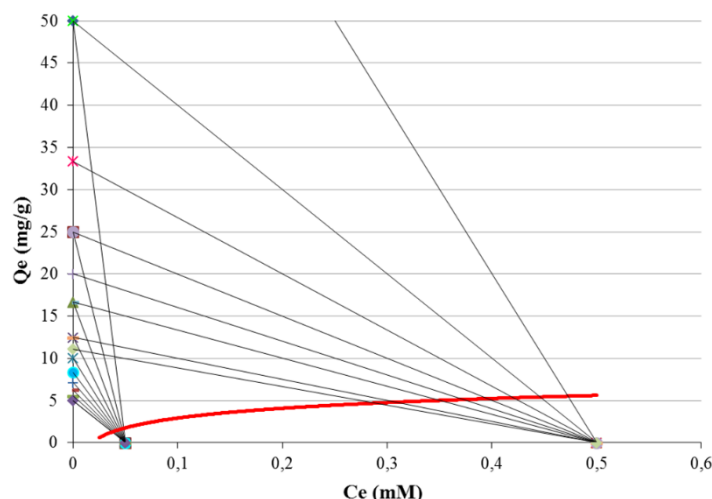


**Figura 5.1** – Representação gráfica do processo de adsorção *batch* considerando a linha de operação e a linha de equilíbrio. Representa-se também o ponto de partida do processo de adsorção ( $C = C_0, Q = 0$ ) e o ponto de equilíbrio ( $C = C_e, Q = Q_e$ ).

Na prática, para obter uma boa descrição da isotérmica de equilíbrio, é necessário realizar diferentes testes de adsorção partindo de pontos diferentes (diferentes concentrações da solução líquida), de forma a chegar a diferentes pontos de equilíbrio. As figuras seguintes esquematizam exemplos de isotérmica de equilíbrio com vários pontos de equilíbrio (Figura 5.2 e Figura 5.3).



**Figura 5.2** – Representação esquemática da determinação experimental de uma isotérmica de adsorção. Neste caso consideram-se diferentes concentrações iniciais da solução líquida, mantendo-se constante a quantidade de adsorvente (hidrogel) utilizado ( $m_H$ ) e volume de solução ( $V_L$ ). Geram-se assim as linhas de operação com o mesmo declive ( $-V_L/m_H$ ) que devem possibilitar a determinação de diferentes pontos de equilíbrio (interseções entre linhas de operação e linhas de equilíbrio).



**Figura 5.3** – Representação esquemática da determinação experimental de adsorção. Neste caso consideram-se duas concentrações iniciais da solução líquida e faz-se, em cada caso, variar a quantidade de adsorvente (hidrogel) utilizando ( $m_H$ ), mantendo constante o volume de solução ( $V_L$ ). Geram-se assim linhas de operação com diferentes declives ( $-V_L/m_H$ ) que devem possibilitar a determinação de diferentes pontos de equilíbrio (interseções entre linhas de operação e linhas de equilíbrio).

### 5.3. Testes Realizados

Nesta secção apresentam-se os testes realizados relativos à adsorção de fármacos em sistema fechado (*batch*). Estes são realizados a partir dos materiais (hidrogéis) sintetizados como descrito no capítulo 3 (ver Tabela 3.1 e 3.2) e caracterizados de acordo com os detalhes do capítulo 4. Os estudos de adsorção foram realizados considerando alguns fármacos modelo utilizados na prática de algumas doenças, tais como, 5-fluoruracilo (5-FU) utilizado no tratamento de cancro, a 4-aminopiridina (4-APy) utilizado no tratamento de esclerose múltipla, a 3-aminopiridina (3-APy) que é um isómero nocivo da 4-aminopiridina e a cafeína (CAF) que é um estimulador do sistema nervoso central. Para a realização dos testes foram seleccionados os hidrogéis (IPNs e CPNs) que apresentavam maiores potencialidades para serem estimulados, ou seja, que apresentam uma elevada variação da razão de inchamento sob efeito da alteração das condições circundantes. Foram considerados como estímulos a variação da temperatura, num intervalo próximo da fisiologia humana. Estes testes tiveram como objetivo quantificar a dinâmica de adsorção dos fármacos a partir dos materiais seleccionados de modo a tentar encontrar linhas de ligação que potenciem combinações vantajosas entre fármaco/hidrogel/estímulo. Por outro lado, também se tentou observar a diferença entre redes convencionais e redes interpenetradas (IPNs) sobre o seu desempenho na adsorção de fármacos. Estes estudos foram realizados através da medição por espectroscopia de

UV (espectrofotômetro UV-Vis V-530 Jasco) das quantidades de fármacos presentes nas soluções aquosas contendo os hidrogéis.

### 5.3.1. Componente Experimental

O processo de adsorção de fármacos ou outras biomoléculas em sistema fechado envolve algumas etapas fundamentais para a sua concretização.

Na primeira etapa preparou-se soluções com uma determinada concentração de fármaco (ex. 3-APy) normalmente designada por “solução mãe”. Para tal, colocou-se uma quantidade de massa de fármaco previamente calculada para um certo volume de água DI, de modo a obter uma concentração de 20 mM. De seguida, são preparadas 15 soluções que foram utilizadas como referência para medir a absorção no UV (289 nm com 3-APy), 14 soluções são constituídas a partir da “solução mãe”, por diluição, até se obter as concentrações desejadas e outra só contém solvente.

A segunda etapa consistiu na pesagem das quantidades de hidrogel (ex. CPN 3), cerca de 15 mg para colocar nas 15 soluções anteriormente preparadas. Em cada ensaio experimental foram colocados 10 mL das soluções com as diferentes concentrações. As quantidades de massa de hidrogel utilizadas e as concentrações de cada uma das soluções podem ser consultadas no Anexo 15.

Na terceira e última etapa, as soluções que contêm o hidrogel foram colocadas no agitador (*mini orbital shaker – STUART*<sup>®</sup>) pelo menos durante um período de 24 hr, com uma agitação entre 150 os 200 rpm e a uma temperatura de 20 °C, por forma atingir o estado de equilíbrio. Após as 24 hr as soluções foram filtradas e a solução restante foi lida por UV, o comprimento de onda utilizado será correspondente ao fármaco em questão (ex. 289 nm com 3-APy).

Porém, foi realizada uma curva de calibração com as referências, de modo a que seja possível relacionar a absorvância com a concentração das soluções. A fim de manter os valores de absorvância na região linear, foi em alguns casos necessário diluir as soluções. É importante que a mesma diluição seja realizada com a amostra e solução de referência. As curvas de calibrações correspondentes aos testes realizados encontram-se nos Anexos 21 e 22.

Foram feitos mais testes com base no procedimento anteriormente descrito com outros fármacos (CAF, 4-APy e 5-FU) e hidrogéis (CPN 1, CPN 2, IPN 1 e IPN 6), as quantidades de massa de hidrogel utilizadas e as concentrações de cada uma das soluções podem ser consultadas nos Anexos 16, 17, 18, 19 e 20.

De modo a calcular as quantidades adsorvidas pelo adsorvente (hidrogel), recorreu-se às seguintes equações. A Equação 5.8 permite calcular a quantidade de fármaco, expressa em mmol de fármaco por gramas de hidrogel (mmol/g),

$$Q_e^{molar} = \frac{[UV_{SOL} - (UV_{ADSOR} - UV_0)]D_F}{\alpha_{CALIB}} \times \frac{V_{ADSOR}}{1000} \times \frac{1000}{m_{HG}} \quad (5.8)$$

Sendo,

$UV_{SOL}$  – é a absorção de UV da solução aquosa utilizada para a concentração de fármaco específico considerado.

$UV_{ADSOR}$  – é a absorção UV da fase aquosa, após um processo de adsorção.

$UV_0$  – é a absorção UV do ensaio em branco (sem fármaco) contendo a mesma quantidade de hidrogel utilizado no teste de adsorção.

$D_F$  – é o fator de diluição considerado nas medições anteriores. As três medições UV ( $UV_{SOL}$ ,  $UV_{ADSOR}$  e  $UV_0$ ) devem ser realizadas utilizando o mesmo fator de diluição.

$\alpha_{CALIB}$  – é o declive da linha reta da calibração que relaciona a absorção UV com a concentração do fármaco, considerando o comprimento de onda específico. Assume-se que as unidades deste declive são 1/mM.

$V_{ADSOR}$  – é o volume de solução, expresso em mL, utilizado no processo de adsorção.

$m_{HG}$  – é a massa de hidrogel, expressa em mg, utilizada no processo de adsorção.

A Equação 5.9 permite calcular a quantidade de fármaco adsorvida, expressa em mg de fármaco por grama de hidrogel (mg/g), sendo só necessário multiplicar o valor anterior pela massa molar do fármaco:

$$Q_e = Q_e^{molar} \times M_w \quad (5.9)$$

Sendo,

$M_w$  – a massa molar do fármaco expressa em mg/mmol (igual a g/mol).

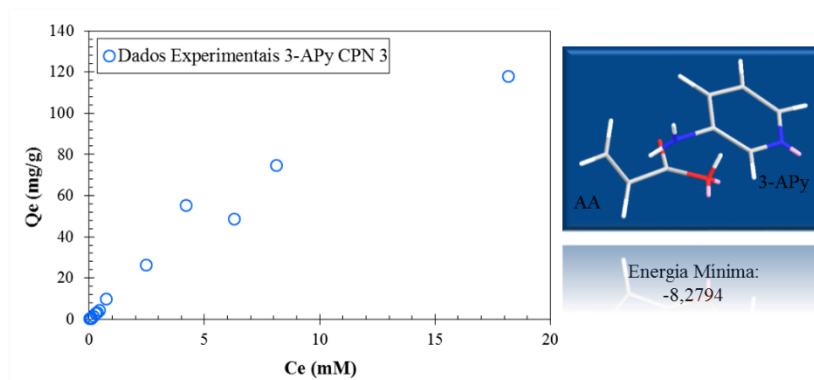
A Equação 5.10 permite calcular a concentração de fármaco na fase aquosa, após o processo de adsorção, expressa em mM:

$$C_e = \frac{(UV_{ADSOR} - UV_0)D_F}{\alpha_{CALIB}} \quad (5.10)$$

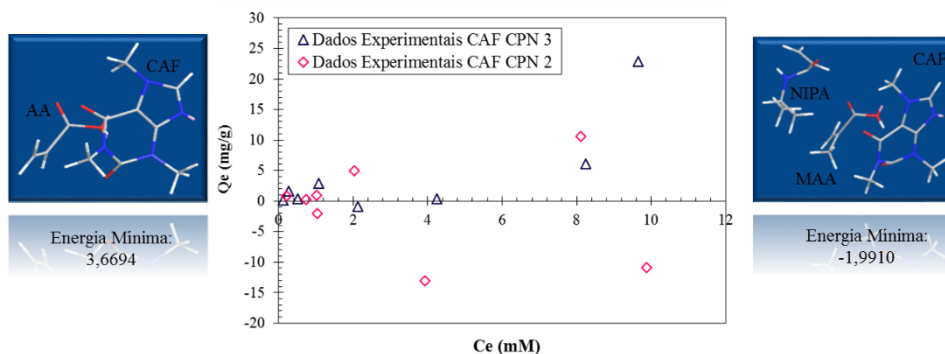
### 5.3.2. Resultados Obtidos e Discussão

Nas Figuras 5.4 e 5.5 são apresentados os resultados dos testes de adsorção de cafeína e 3-aminopiridina em CPNs baseados em AA (CPN 3) e NIPA+MAA (CPN 2) em modo *batch*, a pH neutro e à temperatura de 20 °C. Estes resultados mostram uma elevada afinidade no caso do hidrogel CPN 3 com o fármaco 3-APy e uma baixa afinidade deste mesmo hidrogel com a cafeína. Relativamente ao hidrogel CPN 2 este apresenta também uma baixa afinidade com a cafeína. Estes resultados devem-se provavelmente às diferentes interações exercidas entre as moléculas, visto que, a energia mínima (realizada por simulação computacional, *ChemOffice – Chem3D Ultra 8.0*) obtida entre as moléculas interesse de cada teste variam bastante. À partida, quanto mais baixa for a energia mínima melhor será a interação entre elas, dado que, são favorecidas conformações estáveis. Contudo, o teste realizado com cafeína apresenta resultados um pouco contraditórios no que diz respeito à energia mínima, provavelmente devido à composição do hidrogel (MAA/NIPA).

Os valores negativos para a massa de fármaco adsorvida apresentados na Figura 5.5 deverão ser consequência do erro experimental cometido na avaliação de quantidades demasiado pequenas para a precisão do método utilizado. Medições mais precisas são possíveis por análise frontal, conforme explorado no capítulo 6 deste trabalho.

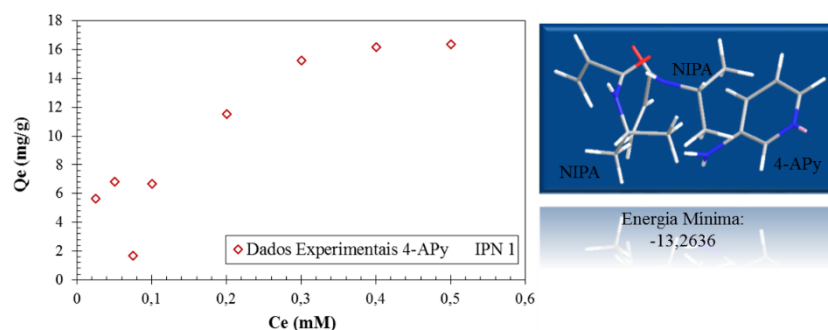


**Figura 5.4** – Teste de adsorção em modo fechado (*batch*) de 3-aminopiridina em rede polimérica convencional baseada em ácido acrílico (CPN 3). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco.

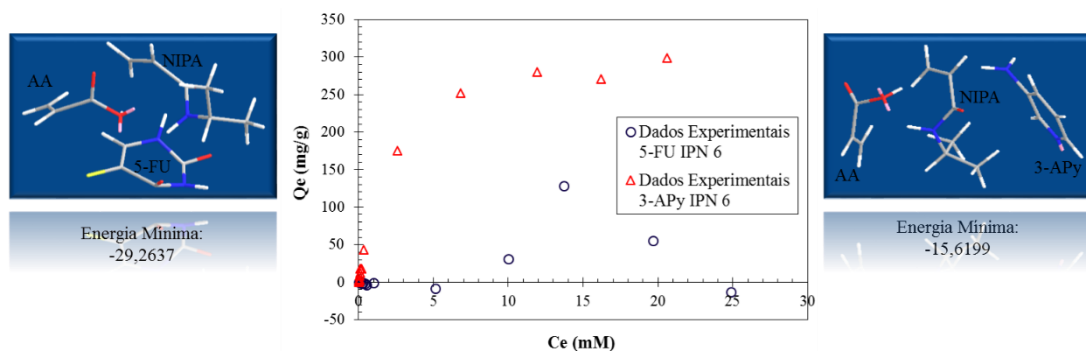


**Figura 5.5** – Teste de adsorção em modo fechado (*batch*) da cafeína em redes poliméricas convencionais, sendo uma baseada em ácido acrílico (CPN 3) e a outra baseada em NIPA+MAA (CPN 2). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco.

Nas Figuras 5.6 e 5.7 apresentam-se os dados experimentais obtidos pelo processo de adsorção em modo fechado dos fármacos 4-APy, 3-APy e 5-FU em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA+NIPA (IPN 1) e AA+NIPA (IPN 6). Em termos gerais o teste que releva maior afinidade entre o hidrogel e o fármaco é correspondente ao hidrogel IPN 6 com a 3-aminopiridina, sendo o hidrogel de carácter ácido e o fármaco de carácter básico. A interação entre eles é bastante elevada como se pode verificar através da energia mínima. Para a combinação IPN 6/5-FU foram medidos baixos valores de quantidade adsorvida, apesar da simulação computacional parecer indicar uma boa estabilidade deste agrupamento. No caso do IPN 1 o teste foi realizado a uma temperatura de 40 °C, logo com o hidrogel no estado colapsado. Os resultados obtidos parecem indicar também uma baixa afinidade entre a rede IPN e 4-APy, apesar da simulação computacional indicar uma razoável estabilidade do agrupamento. Nas Tabelas 5.1 e 5.2 são apresentados os resultados obtidos de forma detalhada.



**Figura 5.6** – Teste de adsorção em modo fechado (*batch*) de 4-aminopiridina em rede polimérica interpenetrante baseada em NIPA, sendo a primeira rede polimérica de NIPA e a segunda rede polimérica também de NIPA (IPN 1). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 40 °C e cerca de 50 mg de massa de hidrogel seco.



**Figura 5.7** – Teste de adsorção em modo fechado (*batch*) de 3-aminopiridina e 5-fluoruracilo em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em ácido acrílico e NIPA, sendo a primeira rede polimérica de ácido acrílico e a segunda rede polimérica de NIPA (IPN 6). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 25 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco.

Em suma, os resultados obtidos com ambos hidrogéis (IPNs e CPNs) e os variados fármacos são no geral pouco favoráveis, indicando baixa afinidade entre as redes poliméricas e os fármacos, mostrando também as limitações da adsorção *batch* quando as quantidades envolvidas são relativamente baixas. Para ultrapassar esta dificuldade optou-se por um método mais preciso (análise frontal) na quantificação do fármaco adsorvido mesmo envolvendo baixas quantidades. Esta técnica será explorada no capítulo 6 desta tese.

Excepcionalmente, a combinação de 3-APy com redes baseadas em AA mostrou originar a adsorção de elevadas quantidades de fármaco. Este resultado é à partida consequência da forte interação iónica entre a parte negativa da rede e a molécula de fármaco que tem um carácter alcalino. Estes resultados serão considerados na próxima secção nos estudos de modelação matemática para determinação de isotérmicas de adsorção.

**Tabela 5.1** – Descrição dos estudos de adsorção realizados com diferentes hidrogéis convencionais e diferentes fármacos.

Hidrogel CPN	Fármaco	Temperatura de adsorção (°C)	Tempo de adsorção	Concentrações das soluções iniciais (mM)	Massas de hidrogel (mg)	Volume de solução (mL)	Notas
CPN 1	4-APy	40	> 48 hr	0,05	10,0	10	Os valores obtidos parecem confirmar a baixa capacidade de adsorção deste tipo de material nas condições testadas. Os resultados indicam uma baixa afinidade do hidrogel com este fármaco.
					20,0		
					30,0		
					39,9		
					50,1		
					60,1		
					70,1		
					79,9		
					89,9		
					100,1		
CPN 3	3-APy	20	>24 hr	0,025	15,1	10	Os valores obtidos neste estudo confirmam a existência de uma elevada afinidade do hidrogel com este fármaco (ver Figura 5.5).
				0,05	15,0		
				0,075	14,9		
				0,1	14,9		
				0,2	15,1		
				0,3	14,9		
				0,4	15,0		
				0,5	15,1		
				1,0	15,0		
				3,0	15,0		
				5,0	15,0		
				7,0	15,0		
				9,0	15,1		
20,0	15,0						

**Tabela 5.1**  
(Continuação)

Hidrogel CPN	Fármaco	Temperatura de adsorção (°C)	Tempo de adsorção	Concentrações das soluções iniciais (mM)	Massas de hidrogel (mg)	Volume de solução (mL)	Notas
CPN 2	CAF	20	>24 hr	0,1	15,1	10	Os valores obtidos parecem confirmar a baixa capacidade de adsorção deste tipo de material nas condições testadas. Os resultados indicam uma baixa afinidade do hidrogel com este fármaco.
				0,25	15,2		
				0,5	15,1		
				1,0	15,3		
				2,0	15,2		
				4,0	15,0		
				8,0	15,2		
				10,0	15,0		
CPN 3	CAF	20	>24 hr	0,1	15,6	10	Os valores obtidos parecem confirmar a baixa capacidade de adsorção deste tipo de material nas condições testadas. Os resultados indicam uma baixa afinidade do hidrogel com este fármaco.
				0,25	15,0		
				0,5	15,3		
				1,0	15,0		
				2,0	15,2		
				4,0	15,0		
				8,0	15,0		
				10,0	15,3		

**Tabela 5.2** – Descrição dos estudos de adsorção realizados com diferentes IPNs e diferentes fármacos.

Hidrogel IPN	Fármaco	Temperatura de adsorção (°C)	Tempo de adsorção	Concentrações das soluções iniciais (mM)	Massas de hidrogel (mg)	Volume de solução (mL)	Notas
IPN 1	4-APy	40	> 48 hr	0,025	50,1	10	Os valores obtidos apresentam elevada dispersão, possivelmente em resultado da baixa capacidade de adsorção deste material (um patamar de ~5 mmol/kg parece ter sido atingido). Os resultados indicam uma baixa afinidade do hidrogel com este fármaco (ver Figura 5.6).
				0,05	50,6		
				0,075	49,9		
				0,1	50,7		
				0,2	49,7		
				0,3	50,2		
				0,4	50,6		
				0,5	50,7		
IPN 6	3-APy	25	>48 hr	0,025	15,2	10	Os valores obtidos neste estudo confirmam a existência de uma elevada afinidade do hidrogel (IPN 6) com este fármaco (ver Figura 5.7).
				0,05	15,1		
				0,075	15,0		
				0,1	15,3		
				0,2	15,1		
				0,3	15,2		
				0,4	15,3		
				0,5	15,0		
				1,0	15,3		
				5,0	15,3		
				10,0	15,0		
				15,0	15,4		
20,0	15,0						
25,0	15,1						

**Tabela 5.2**  
(Continuação)

Hidrogel IPN	Fármaco	Temperatura de adsorção (°C)	Tempo de adsorção	Concentrações das soluções iniciais (mM)	Massas de hidrogel (mg)	Volume de solução (mL)	Notas
IPN 6	5-FU	25	>48 hr	0,025	15,1	10	Os valores obtidos apresentam elevada dispersão, possivelmente em resultado da baixa capacidade de adsorção deste material. Os resultados indicam uma baixa afinidade do hidrogel com este fármaco (ver Figura 5.7).
				0,05	15,2		
				0,075	15,1		
				0,1	15,5		
				0,2	15,5		
				0,3	15,2		
				0,4	15,3		
				0,5	15,2		
				1,0	15,2		
				5,0	15,1		
				10,0	15,5		
				15,0	15,3		
				20,0	15,4		
25,0	15,5						

## 5.4. Modelação Matemática para a Determinação das Isotérmicas de Adsorção

Neste subcapítulo apresentam-se os resultados relativos à modelação dos dados experimentais obtidos com o objetivo de determinar os parâmetros das isotérmicas teóricas anteriormente descritas.

Os métodos de ajustes de curvas, também conhecidos como análise de regressão, são amplamente utilizados para encontrar o melhor ajuste para um conjunto de dados.

O método de *Least Squares* é um método bastante conhecido que se baseia no ajuste de curvas, este método minimiza o erro quadrático entre os dados experimentais e os valores previstos pela função que desejamos ajustar. Embora não seja o mais robusto no ajuste de uma função para um conjunto de dados, tem a vantagem de ser relativamente simples em termos computacionais e de fácil compreensão.

Dado um conjunto  $n$  de dados de variáveis independentes e dependentes  $(xdata_i, ydata_i)$ , o algoritmo encontra parâmetros  $x$  do modelo  $f(x, xdata_i)$ , de forma a que a soma dos quadrados dos resíduos seja mínima (Equação 5.11).

$$\min \sum_{i=1}^n (f(x, xdata_i) - ydata_i)^2 \quad (5.11)$$

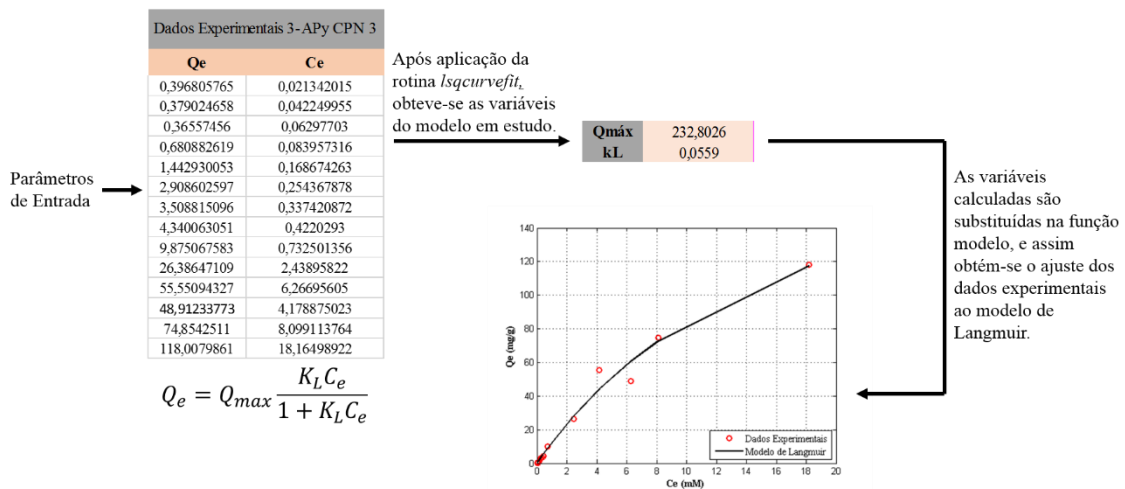
Este modelo pode ser aplicado através do algoritmo *Trust-Region-Reflective*, utilizado pela função do *Matlab*®, *lsqcurvefit*. Esta função tenta encontrar os coeficientes que melhor ajustam a função *input* aos dados experimentais. Esta função tenta resolver problemas não lineares de ajuste a uma curva (dados de entrada), no sentido dos mínimos quadrados. Isto é, fornecendo os dados de entrada  $xdata_i$  e sendo  $ydata_i$  o resultado observado, encontramos os coeficientes de  $x$  que melhor se ajustam ao modelo em estudo. Assim sendo, um dos parâmetros de entrada para o ajuste é a função a que queremos ajustar aos dados experimentais, pelo que as funções utilizadas são as equações mencionadas anteriormente (Equações 5.1, 5.2, 5.3, 5.4 e 5.5).

O algoritmo descrito está de acordo com a documentação do *Software Mathworks Matlab*®, presente na *Toolbox* de Otimização.

### 5.4.1. Aplicação do Algoritmo

Como já foi referido anteriormente o objetivo é ajustar um modelo a um conjunto de dados, por exemplo, a isotérmica de Langmuir (Equação 5.1) aos dados experimentais obtidos por adsorção em sistema fechado. Assim sendo, a partir da Equação 5.11 é possível obter um ajuste da isotérmica. Pela equação 5.11 sabe-se que  $ydata_i$  corresponde a  $Q_e$ , o modelo  $f$  corresponde no problema em estudo a  $Q_{max} \frac{K_L C_e}{1+K_L C_e}$  sendo  $xdata_i$  a variável  $C_e$  e  $x$  um vetor com os parâmetros  $K_L$  e  $Q_{max}$ , fazendo corresponder com a Equação 5.1.

Posto isto, pelos dados experimentais anteriores  $Q_e$  e  $C_e$  aplica-se a função *lsqcurvefit*, utilizando o *Software Mathworks Matlab®* para obter as constantes do modelo em estudo, as constantes calculadas são substituídas na função modelo e é obtido assim o ajuste dos dados experimentais com o modelo teórico. Este método será aplicado de igual forma a todos os outros modelos em estudo. Na Figura 5.8 apresenta-se um esquema da aplicação do algoritmo. Utiliza-se como exemplo os dados experimentais da adsorção do 3-Apy testado com o hidrogel CPN 3, ajustados à isotérmica de Langmuir.



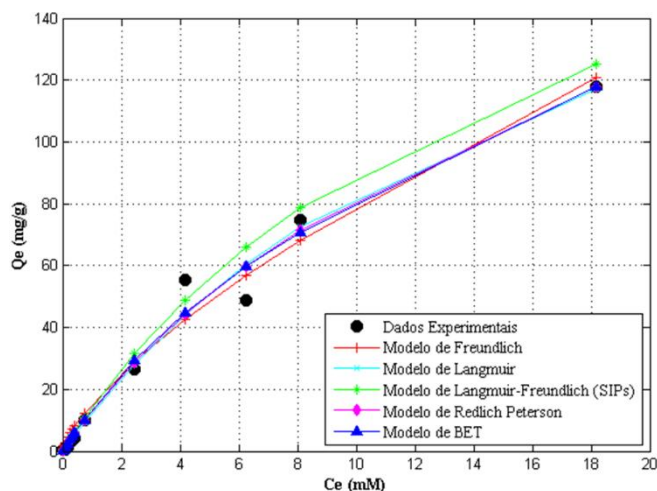
**Figura 5.8** – Ilustração esquemática do procedimento desenvolvido para o ajuste dos dados experimentais das isotérmicas de adsorção a diferentes modelos (a função de Langmuir é aqui considerada como exemplo).

Os valores dos parâmetros das isotérmicas obtidos a partir do ajuste dos vários modelos aos diferentes testes de adsorção em modo *batch* (dados experimentais) podem ser consultados nos anexos deste trabalho (ver Anexos 23, 24, 25 e 26).

## 5.4.2. Resultados Obtidos e Discussão

Após análise dos dados experimentais da subsecção 5.3.2 conclui-se que nem todos os testes realizados podem ser avaliados em termos de ajuste a um modelo teórico (isotérmicas), alguns dos testes apresentam pontos bastante dispersos, nomeadamente os que apresentam baixa afinidade entre fármaco e hidrogel. No entanto, o hidrogel CPN 2 com a cafeína foi modelado retirando os pontos negativos. O hidrogel IPN 1 apresenta dois pontos fora da linha de tendência, daí ter-se considerado que o hidrogel apresentava uma baixa afinidade com o fármaco. Contudo, tentou-se ajustar as isotérmicas aos dados experimentais. É de referir que os gráficos de cada isotérmica correspondente a cada teste efetuado encontram-se nos anexos deste trabalho (ver Anexos 27, 28, 29 e 30). Aqui é feito uma comparação de todas as isotérmicas de cada teste experimental.

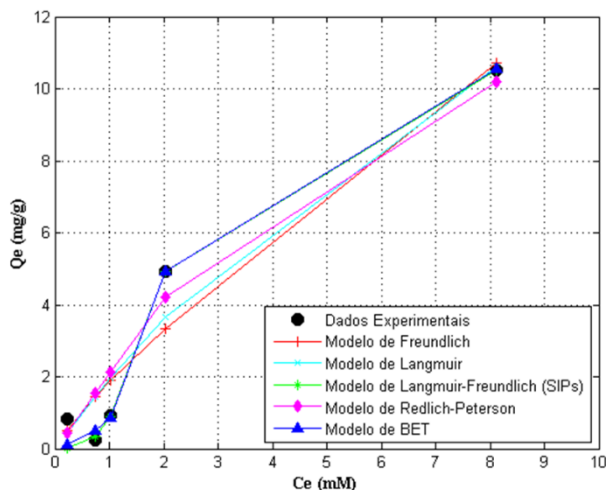
Nas Figuras 5.9 e 5.10 são apresentados os resultados obtidos do ajuste das isotérmicas aos dados experimentais para a adsorção de 3-APy e CAF em redes poliméricas convencionais. Analisando o gráfico ilustrado na Figura 5.9 é possível verificar que todas isotérmicas descrevem de forma favorável o equilíbrio de 3-APy. De acordo com os valores de  $Q_{máx}$  apresentado no Anexo 23, as capacidades máximas de adsorção foram de 254,88 mg/g e 232,80 mg/g, correspondentes ao modelo de Sips e ao modelo de Langmuir, respetivamente.



**Figura 5.9** – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas convencionais baseadas em AA (CPN 3). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco.

Pela análise da Figura 5.10 observamos que o modelo de Sips e de BET apresentam um ajuste razoável aos dados experimentais em relação aos outros modelos em estudo.

Contudo, os valores do  $Q_{m\acute{a}x}$  (capacidades máximas, ver Anexo 24) foram 28,81 mg/g e 10,66 mg/g, correspondentes ao modelo de Langmuir e ao modelo de Sips, respetivamente. A capacidade máxima de adsorção do modelo de BET estima-se em 2,096 mg/g, apesar de apresentar um bom ajuste, a adsorção máxima prevista é inferior ao previsto pelos outros modelos.

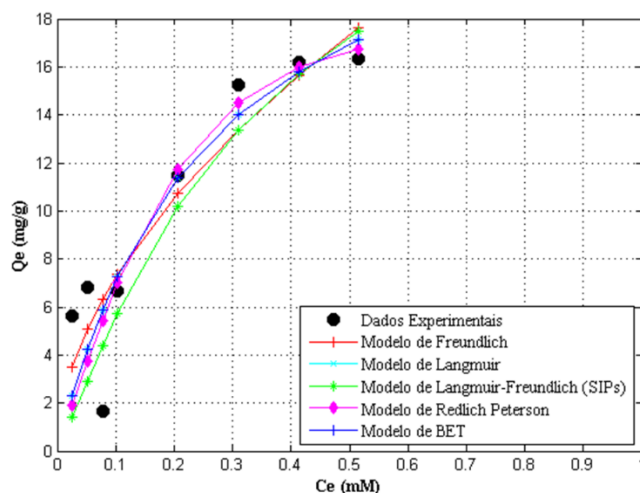


**Figura 5.10** – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA (CPN 2). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco.

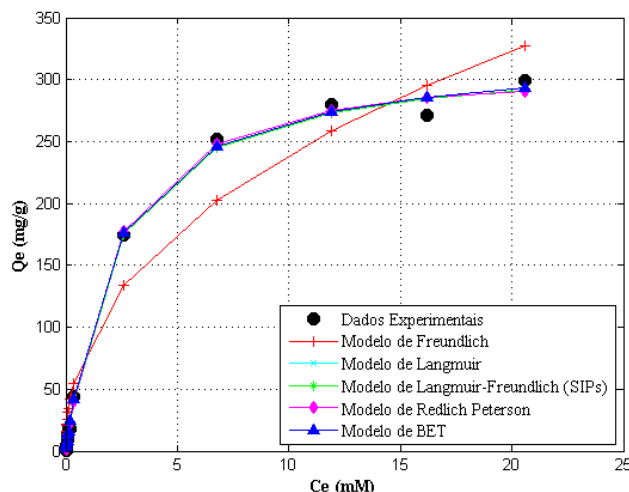
Nas Figuras 5.11 e 5.12 são apresentados os resultados obtidos para o ajuste das isotérmicas aos dados experimentais da adsorção de 4-APy e 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes.

Pela observação do gráfico ilustrado na Figura 5.11 conclui-se que a tentativa de ajustar os modelos aos dados experimentais, produz ajustes desfavoráveis para a adsorção em equilíbrio de 4-APy com o hidrogel IPN 1. Neste teste, a existência de dois pontos fora da zona da curva conduz a maus ajustes dos modelos teóricos aos dados experimentais. Os valores das capacidades máximas podem ser consultadas no Anexo 25.

Relativamente ao gráfico ilustrado na Figura 5.12, constata-se que são os dados experimentais que melhores ajustes obtém, à exceção do modelo de Freundlich. Denota-se que só um ponto fora da zona da curva também pode levar a um mau ajuste do modelo teórico. Com o modelo de Langmuir é prevista a maior capacidade de adsorção (ver Anexo 26).



**Figura 5.11** – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 4-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA+NIPA (IPN 1). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 40 °C e cerca de 50 mg de massa de hidrogel seco.



**Figura 5.12** – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 25 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco.

## 5.5. Considerações Finais

Neste capítulo foram apresentados os resultados experimentais e a modelação teórica da adsorção de fármacos em hidrogéis (CPNs e IPNs), considerando a operação em modo fechado (adsorção *batch*). Numa primeira fase, foram discutidos os modelos teóricos mais comuns em processos de adsorção, nomeadamente as isotérmicas de equilíbrio de adsorção de Langmuir, Freundlich, Langmuir-Freundlich (Sips), Redlich-Peterson (RP) e Brunauer, Emmett e Teller (BET). Posteriormente, foram apresentados alguns princípios fundamentais associados à medição experimental de isotérmicas de adsorção,

nomeadamente os conceitos de linha de equilíbrio e linha de operação e a forma como estes podem ser usados para projetar a obtenção de dados de equilíbrio de adsorção.

Foram também apresentados os detalhes experimentais relativos aos testes de adsorção realizados. Nestes testes foram considerados materiais selecionados de forma a representar redes potencialmente estimuláveis pelo pH/Temperatura, nomeadamente os hidrogéis convencionais CNP 1 (NIPA), CNP2 (NIPA/MAA) e CNP3 (AA). Testes equivalentes foram realizados com hidrogéis IPN, nomeadamente IPN 1 (NIPA/NIPA) e IPN 6 (AA/NIPA). Os diferentes tipos de redes de polímero foram combinadas de forma selecionada com diferentes tipos de fármacos de modo a tentar avaliar potenciais interações específicas entre a estrutura dos hidrogéis e as moléculas de fármaco (ex. interações iónicas e/ou por pontes de hidrogénio). Neste contexto, foram consideradas as seguintes associações: CNP 1/4-APy, CNP 2/CAF, CNP 3/3-APy, CNP 3/CAF, IPN 1/4-APy, IPN 6/3-APy, IPN 6/5-FU. Esta abordagem experimental foi complementada com estudos de simulação computacional na tentativa de identificar teoricamente as associações potencialmente mais estáveis e o seu reflexo nas quantidades de fármaco adsorvidas. Na realização dos ensaios de adsorção foram identificadas limitações importantes do método fechado (*batch*), nomeadamente quando as quantidades adsorvidas são muito baixas. Neste caso, a precisão das medições torna-se insuficiente levando à obtenção de dados irrealistas (ex. valores negativos para a quantidade de fármaco adsorvida). A identificação destas limitações motivou a consideração de técnicas de medição mais precisas, nomeadamente a análise frontal, como explorado no próximo capítulo deste trabalho. Como resultado das medições efetuadas, foi possível observar a boa capacidade de adsorção de 3-APy por materiais baseados em ácido acrílico, nomeadamente CNP 3 e IPN 6. Esta combinação favorável deverá resultar das fortes interações iónicas entre a carga negativa da rede (conferida pelas unidades de AA) e a carga positiva que é possível gerar nas moléculas de 3-APy (molécula de carácter alcalino). Valores substancialmente mais baixos para as quantidades de fármaco adsorvidas (ou mesmo virtualmente nulos) foram medidos para as restantes combinações selecionadas. Note-se que também não foi observada uma relação direta entre os valores mais negativos da energia de interação previstos pelas simulações computacionais (indicando à partida uma maior estabilidade da associação fármaco/monómeros funcionais) e a maior capacidade de adsorção das redes medida experimentalmente. De facto, estas simulações computacionais avaliam a interação entre os fármacos e os monómeros na sua forma livre (não polimerizada), sendo

especialmente úteis na definição de sistemas de impressão molecular. A análise aqui feita parece indicar que essas interações sofrem alterações quando se consideram redes de polímero geradas a partir desses mesmos monómeros, o que é consistente com a diminuição da liberdade de arranjo espacial das espécies químicas quando integradas em cadeias macromoleculares.

Foram também aqui apresentados os estudos de modelação matemática visando o ajuste dos dados experimentais de adsorção obtidos aos diferentes tipos de modelos de isotérmicas atrás mencionados. Foi descrito o procedimento desenvolvido neste contexto utilizando ferramentas de otimização do *Matlab*®. Através da aplicação dos algoritmos descritos aos dados experimentais disponíveis foi possível calcular os parâmetros de ajuste correspondentes a cada tipo de isotérmica e confirmar as associações fármaco/rede que favorecem o processo de adsorção. Em concreto, considerando a isotérmica de Langmuir como referência (ver todos os dados disponíveis nos anexos 23 a 26), foram estimadas as seguintes quantidades máximas de adsorção: 233 mg/g para CNP 3/3-APy, 29 mg/g para CNP 2/CAF, 26 mg/g para IPN 1/4-APy e 324 mg/g para IPN 6/3-APy.

Os resultados atrás descritos confirmam o bom desempenho de redes baseadas em AA na adsorção de 3-APy, nomeadamente o IPN 6, que deverá resultar das fortes interações iónicas desta combinação, como atrás descrito. A adsorção de fármacos em redes de polímero estimuláveis será explorada no próximo capítulo usando uma técnica mais precisa. Será considerada a análise frontal na tentativa de eliminar a falta de precisão do modo *batch* relatada neste capítulo. Adicionalmente, serão considerados testes de adsorção comparativos de forma a tentar avaliar o efeito da estimulação (variação do pH/T) nas quantidades de fármaco retidas/libertadas.

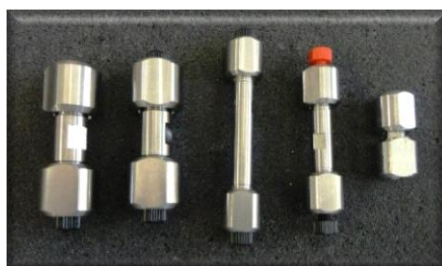
## Capítulo 6 - Testes de Adsorção (Saturação) e Dessorção (Libertação) de Fármacos na Operação em Contínuo

### 6.1. Introdução

Neste capítulo apresentam-se alguns conceitos teóricos sobre a adsorção e dessorção de fármacos na operação em contínuo, nomeadamente, testes com um hidrogel aniônico, aspetos gerais sobre o procedimento experimental e algumas noções sobre a quantificação da adsorção e dessorção por análise frontal. Descreve-se também a adsorção de fármacos em modo contínuo por SPE. De seguida, referem-se os testes realizados durante o estudo. Foram efetuados dois tipos de testes de adsorção em modo contínuo, o primeiro teste foi efetuado por SPE, com este teste tenta-se avaliar de uma forma simples se o hidrogel tem ou não afinidade com o fármaco. O segundo teste foi realizado através do equipamento de GPC, sendo estes testes muito mais precisos que os anteriores. Por fim, apresentam-se os resultados obtidos e a sua discussão.

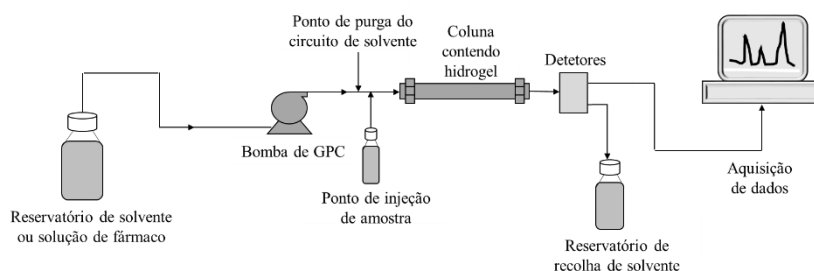
### 6.2. Adsorção e Dessorção de Fármacos na Operação em Contínuo – Conceitos Gerais

Com o objetivo de avaliar a adsorção e libertação de diferentes fármacos em diferentes tipos de hidrogéis foi realizado o estudo experimental destes processos em coluna de enchimento a operar em modo contínuo. Para esse efeito, foi colocada uma massa seca predefinida do hidrogel selecionado numa coluna de enchimento (ver exemplo na Figura 6.1) e, posteriormente é feito o seu acondicionamento (inchamento) efetuando a bombagem de água através da coluna até obtenção de condições estáveis de pressão no sistema (ex. 2,5 MPa considerando um caudal de bombagem de 0,33 mL/min).



**Figura 6.1** – Ilustração fotográfica de várias colunas de enchimento utilizadas em estudos experimentais de adsorção e libertação de fármacos em hidrogéis considerando a operação em modo contínuo.

Para realizar estes estudos foi utilizado um sistema de cromatografia de exclusão de tamanhos (GPC/SEC), incluindo um módulo de bombagem de solvente e injeção de amostras (modelo Viscotek GPCmax VE 2001) que está também equipado com detecção de quatro sinais, nomeadamente índice de refração (RI), dispersão da luz (LS) viscosidade intrínseca (IV-DP) e ultravioleta (UV). A detecção UV é especialmente útil no contexto dos testes aqui realizados como será adiante detalhado. Na Figura 6.2 faz-se uma representação esquemática simplificada do sistema de GPC utilizado neste trabalho.



**Figura 6.2** – Representação esquemática simplificada do sistema de GPC utilizado neste trabalho para estudar experimentalmente a adsorção e libertação de fármacos em hidrogéis considerando a operação em modo contínuo.

### 6.2.1. Testes com um Hidrogel Aniónico baseado em Ácido Acrílico

Com o objetivo de avaliar a afinidade entre alguns fármacos considerados neste trabalho e hidrogéis com estrutura aniónica, foram realizados testes utilizando a rede de polímero CPN 3 (hidrogel de ácido acrílico com síntese FRP) como material de enchimento da coluna. Para este efeito, foram colocados 15 mg de hidrogel seco na coluna de enchimento que foi posteriormente integrada no sistema de GPC. Durante 24 hr fez-se circular no sistema de GPC água a um caudal de 0,1 mL/min com o objetivo de acondicionar o hidrogel no interior da coluna dado que é conhecido o seu inchamento na presença deste solvente. Note-se que a quantidade de hidrogel seco que foi colocado na coluna estimou-se com base na razão de inchamento do hidrogel (superior a 100 vezes) e no volume interno da coluna (1,57 mL) [54].

#### 6.2.1.1. Injeção de Soluções Aquosas contendo Fármacos

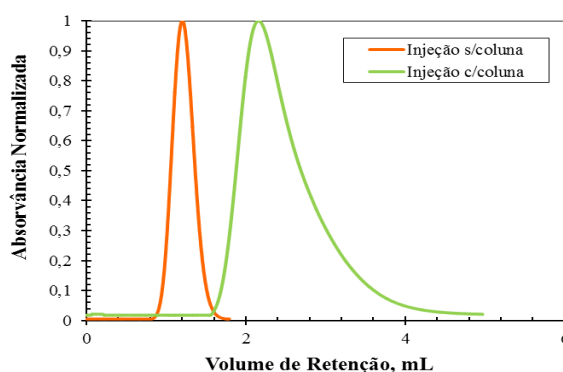
Nestes testes foi realizada a injeção (impulso de concentração) de soluções aquosas dos diferentes fármacos no sistema de GPC. Para esse efeito, considerou-se o mecanismo de

injeção automática do equipamento de GPC (volume de solução efetivamente injetado é de 100  $\mu\text{L}$ ). De modo a avaliar o efeito do hidrogel na retenção dos diferentes tipos de moléculas, em cada caso, foi realizada a injeção na presença e na ausência da coluna contendo o hidrogel. Estes testes foram realizados considerando o sistema de GPC a operar à temperatura ambiente ( $T \sim 19^\circ\text{C}$ ). Dada a elevada absorção UV dos fármacos considerados neste trabalho, o sinal deste detetor foi utilizado para monitorizar a concentração à saída da coluna das moléculas consideradas [54].

Na Figura 6.3 apresenta-se o sinal de adsorção registado no detetor UV em resultado da injeção no sistema de GPC de uma solução aquosa de 5-fluoruracilo com concentração 0,1 mM. Apresenta-se aqui o sinal UV normalizado, que é obtido através da divisão do sinal efetivo pelo valor máximo observado. Este teste foi realizado considerando um caudal de eluente de 0,1 mL/min e com monitorização da absorção UV a 265 nm. A comparação dos picos observados na presença e na ausência de coluna com hidrogel permite concluir que há uma afinidade efetiva entre o fármaco e o material considerado (note-se a elevada retenção do fármaco no sistema quando é usada coluna com hidrogel).

Deve também notar-se que o tempo de retenção (ou eluição) das moléculas de fármaco no sistema ( $t_e$ ) e o correspondente volume de retenção (ou eluição) ( $V_e$ ) estão relacionados pelo caudal considerado na operação do sistema ( $Q$ ):

$$V_e = Q \times t_e \quad (6.1)$$



**Figura 6.3** - Sinal de absorção registado no detetor UV em resultado da injeção no sistema de GPC de uma solução aquosa de 5-fluoruracilo com concentração 0,1 mM. Apresenta-se aqui o sinal UV normalizado, que é obtido através da divisão do sinal efetivo pelo valor máximo observado. Este teste foi realizado considerando um caudal de eluente de 0,1 mL/min e com monitorização da absorção UV a 265 nm. A comparação dos picos observados na presença e na ausência de coluna com hidrogel permite concluir que há uma afinidade efetiva entre o fármaco e a rede de polímero considerado (note-se a elevada retenção do fármaco no sistema quando é usada coluna com hidrogel).

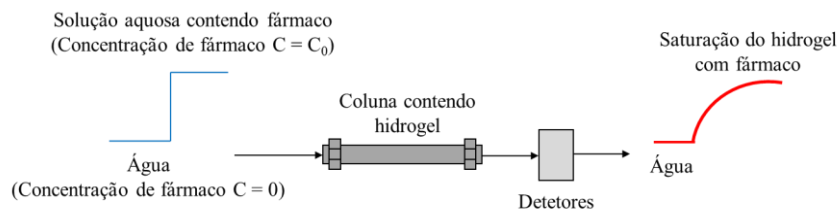
### **6.2.1.2. Aspectos Gerais sobre o Procedimento Experimental na Adsorção (Saturação) e Dessorção (Libertação) Fármacos na Operação em Contínuo**

Nas Figuras 6.4 e 6.5 faz-se a representação esquemática dos processos ideais de adsorção (saturação) e dessorção (libertação) de fármacos em hidrogéis colocados em colunas a operar em modo contínuo. Para realizar o processo de saturação (adsorção), o sistema de GPC com a coluna de hidrogel é alimentado inicialmente com água pura (concentração de fármaco  $C = 0$ ) durante um período de tempo suficientemente longo até se obter um comportamento estável nos detetores (concentração nula de fármaco). Num dado instante ( $t = 0$ ) faz-se a alimentação do sistema com uma solução aquosa contendo o fármaco selecionado (concentração de fármaco  $C = C_0$ ), provocando desta forma uma variação em degrau na concentração de fármaco à entrada da coluna. Após algum tempo de operação é detetada (nestes testes foi utilizada monitorização UV) a presença de fármaco na corrente de saída da coluna. Se este processo for realizado durante um período de tempo suficientemente longo, o hidrogel presente na coluna atingirá a saturação nesse fármaco para um dado  $C_0$  (torna-se incapaz de adsorver quantidades adicionais dessa molécula) e a concentração à saída da coluna passa a ser constante [62-64].

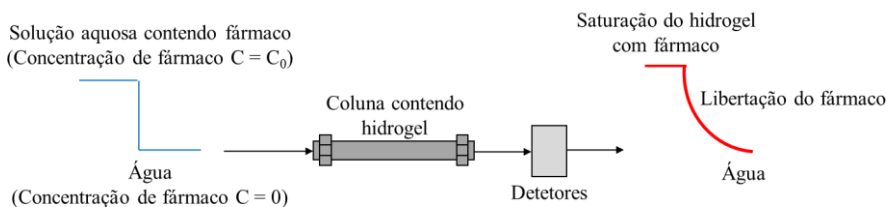
Para realizar o estudo da libertação (dessorção) do fármaco, parte-se do hidrogel no estado de saturação (descrição atrás apresentada), e, num dado instante, a alimentação contendo fármaco ( $C = C_0$ ) é substituída pela alimentação com água pura ( $C = 0$ ). Provoca-se desta forma uma variação em degrau negativo na concentração de fármaco à entrada da coluna. A passagem de água pura no hidrogel provoca a dessorção (libertação) do fármaco que ao fim de um tempo de operação suficientemente longo de operação o deverá libertar na totalidade. Após o fim do processo de libertação do fármaco, nos detetores é detetada a presença de água pura.

Os procedimentos atrás descritos e esquematizados nas Figuras 6.4 e 6.5 verificam-se em condições ideais de funcionamento. No entanto, na prática, algumas dificuldades experimentais originam desvios a este comportamento ideal. Um dos aspetos a ter em especial atenção na realização destes testes relaciona-se com o início dos processos de alimentação de fármaco ou água nas etapas de saturação e de libertação, respetivamente. De facto, quando se faz a mudança dos reservatórios de alimentação, é necessário purgar convenientemente a tubagem localizada entre o reservatório e a entrada da coluna de modo a garantir que não se faz a alimentação com uma mistura das duas

soluções. Note-se que o volume de líquido presente nessas tubagens de alimentação é suficientemente grande para provocar a mistura dessas duas soluções (contendo/não-contendo fármaco) e desta forma provocar desvios aos degraus de alimentação representados nas Figuras 6.4 e 6.5. Esta dificuldade é potenciada pelo facto de serem utilizados nestes testes caudais de alimentação relativamente baixos (de modo a garantir pressões aceitáveis nas colunas) o que agrava eventuais efeitos de mistura dessas correntes [54,63].



**Figura 6.4** – Representação esquemática do procedimento experimental associado à saturação de um hidrogel com um fármaco considerando a operação em modo contínuo. Para esse efeito, o sistema de GPC com a coluna de hidrogel é alimentado com água pura (concentração de fármaco  $C = 0$ ) durante um período de tempo suficientemente longo até se obter um comportamento estável nos detetores (concentração nula de fármaco). Num dado instante ( $t = 0$ ) faz-se a alimentação do sistema com uma solução aquosa contendo o fármaco selecionado (concentração de fármaco  $C = C_0$ ), provocando desta forma uma variação em degrau na concentração de fármaco à entrada da coluna. Após algum tempo de operação é detetada (ex. usando UV) a presença de fármaco na corrente de saída da coluna. Se este processo for realizado durante um período de tempo suficientemente longo, o hidrogel presente na coluna atingirá a saturação nesse fármaco (torna-se incapaz de adsorver quantidades adicionais dessa molécula) e a concentração à saída da coluna passa a ser constante [54].



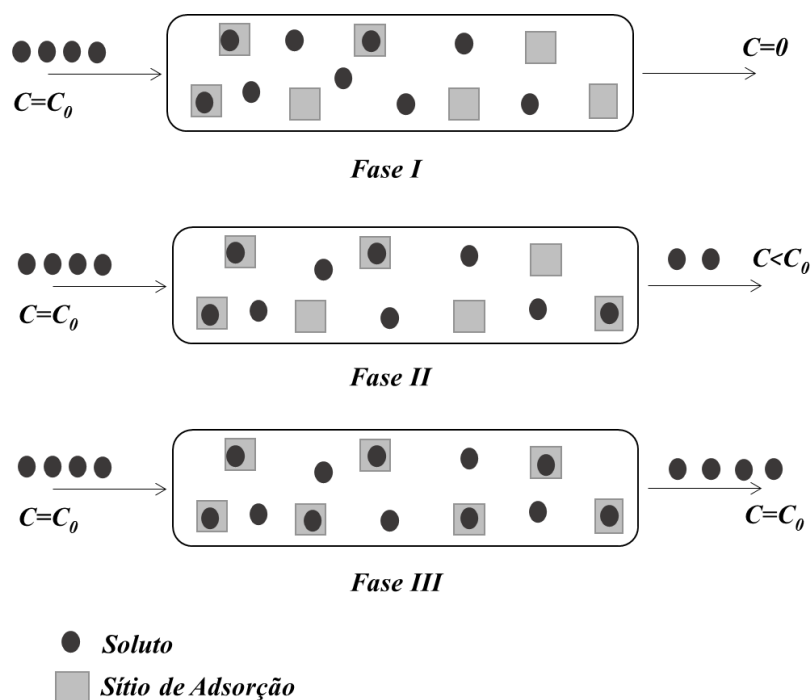
**Figura 6.5** – Representação esquemática do procedimento experimental associado à libertação de um fármaco de um hidrogel considerando a operação em modo contínuo. Partindo com o hidrogel no estado de saturação (ver Figura 6.4), num dado instante, a alimentação contendo fármaco ( $C = C_0$ ) é substituída pela alimentação com água pura ( $C = 0$ ). Provoca-se desta forma uma variação em degrau negativo na concentração de fármaco à entrada da coluna. A passagem de água pura no hidrogel provoca a dessorção (libertação) do fármaco que ao fim de um tempo de operação suficientemente longo de operação o deverá libertar na totalidade. Após o fim do processo de libertação do fármaco, nos detetores é detetada a presença de água pura [54].

É salientar que no final de cada teste de saturação e libertação é necessário realizar uma purga à tubagem do sistema de alimentação. Este passo é fundamental para evitar a mistura de soluções com diferentes composições. A não realização da purga leva à ocorrência de perfis de saturação/libertação não ideais.

### 6.3. Fundamentos Teóricos sobre a Quantificação da Adsorção por Análise Frontal

A análise frontal é considerada a técnica cromatográfica mais precisa para determinação de isotérmicas de adsorção de um componente sobre fase estacionária (ex. num processo líquido/sólido). Como atrás descrito, este método consiste na substituição da corrente de fase móvel (ex. água) por uma solução contendo o componente estudado (ex. um fármaco) numa concentração conhecida. A curva de “breakthrough” (curva de eluição) do soluto é registada à saída da coluna (ex. usando um detetor UV). Um balanço material do soluto (conservação de massa) entre o momento em que a solução começa a percorrer a coluna e o instante em que se atinge a saturação (patamar de concentração) permite calcular a quantidade adsorvida na fase estacionária ( $q^*$ ), que estará desta forma em equilíbrio com a fase móvel (cuja concentração de soluto é  $C_0$ ) [62-64].

Na Figura 6.6 são representados de forma esquemática diferentes fases num processo de adsorção para uma coluna a operar em modo contínuo.



**Figura 6.6** – Representação esquemática de diferentes fases num processo de adsorção líquido/sólido numa coluna a operar em contínuo. Na Fase I a coluna ainda não foi totalmente percorrida pelo soluto. Há sítios de adsorção ocupados e outros livres sendo nula a concentração de soluto à saída da coluna. Na Fase II, a coluna já foi totalmente percorrida pelo soluto havendo no entanto ainda sítios de adsorção livres. Na saída da coluna é observado um valor de concentração inferior ao de entrada. Na Fase III, todos os sítios de adsorção foram ocupados sendo a concentração observada à saída da coluna igual à de entrada (saturação) [62-64].

Nas Figuras 6.7, 6.8, 6.9 e 6.10 são apresentados os detalhes relativos à forma de cálculo das quantidades de soluto (ex. fármaco) adsorvidas na fase estacionária (adsorvente) de uma coluna de enchimento a operar em contínuo [62-64].

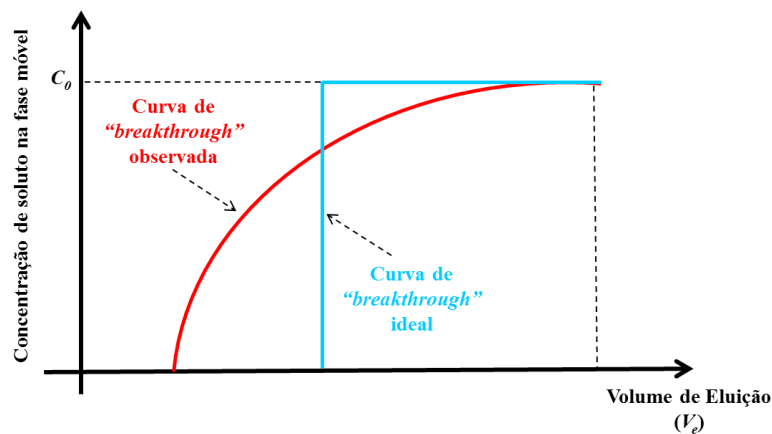
A quantidade de soluto adsorvida por unidade de volume de fase estacionária ( $V_a$ ) é dada pela seguinte Equação:

$$q^* = \frac{C_0(V_{eq} - V_0)}{V_a} \quad (6.2)$$

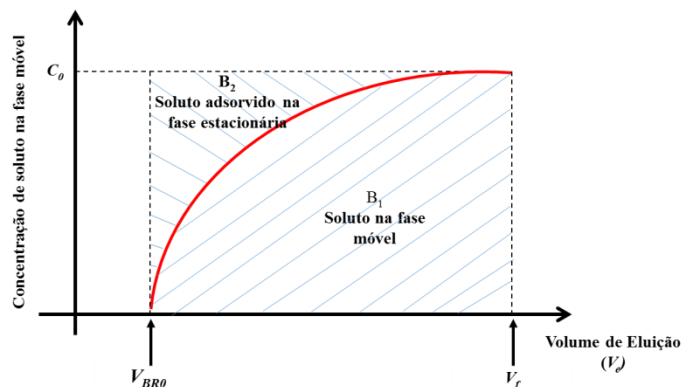
A quantidade de soluto adsorvida por unidade de massa seca da fase estacionária ( $m_S$ ), é dada pela seguinte Equação:

$$q^* = \frac{C_0(V_{eq} - V_0)}{m_S} \quad (6.3)$$

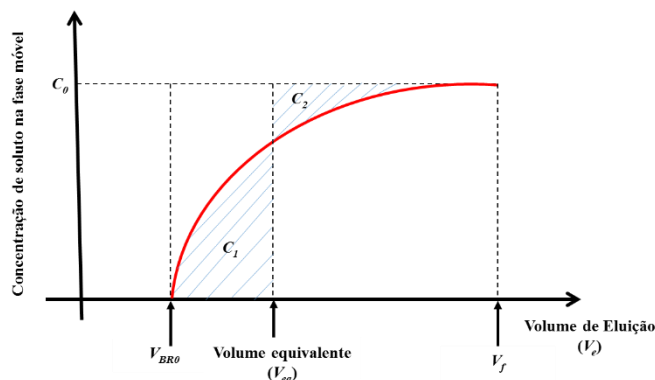
Os valores de  $m_S$  e  $V_a$  são conhecidos por pesagem da quantidade de material seco colocado na coluna e estimativa do volume ocupado após o processo de inchamento. Uma possibilidade é considerar que os materiais ocupam todo o volume geométrico da coluna ( $V_G$ ) porque têm uma elevada capacidade de inchamento [54,62-64].



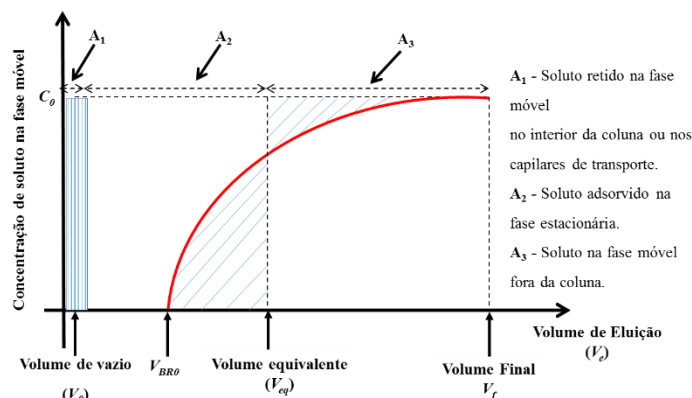
**Figura 6.7** – Representação esquemática da curva de “breakthrough” ideal (sem saída de soluto antes da saturação) e de uma curva de “breakthrough” real (inclui Fases I, II e III com saída de soluto da coluna antes da saturação do adsorvente) [54,62-64].



**Figura 6.8** – Representação esquemática do processo de adsorção entre o início da curva de “breakthrough” (volume de eluição =  $V_{BR0}$ ) e a saturação (volume de eluição =  $V_f$ ). Este período corresponde à Fase II. Neste período, a quantidade total de soluto introduzida no sistema é  $C_0 \times (V_f - V_{BR0})$  que corresponde à área  $B_1 + B_2$ . A área  $B_1$  representa a quantidade de soluto observada na fase móvel e, por diferença,  $B_2$  representa a quantidade de soluto que foi adsorvida no sólido nesse período [54,62-64].



**Figura 6.9** – Representação esquemática do cálculo do Volume Equivalente ( $V_{eq}$ ) para quantificação da quantidade de soluto adsorvida. O objetivo é calcular a área  $B_2$  representada na Figura 6.8. De facto, comparando as Figuras 6.8 e 6.9, a área  $B_2$  pode ser substituída pela área do retângulo  $C_0 \times (V_{eq} - V_{BR0})$  desde que se garanta que as áreas  $C_1$  e  $C_2$  sejam iguais. Calcular o volume equivalente ( $V_{eq}$ ) consiste portanto em encontrar o volume de eluição para o qual  $C_1 = C_2$  [54,62-64].



**Figura 6.10** – Representação geral da quantificação do processo de adsorção numa coluna a operar em contínuo incluindo o volume de vazios (quantifica o soluto retido na fase móvel no interior da coluna ou nos capilares de transporte), o soluto adsorvido na Fase I, que corresponde à área do retângulo  $C_0 \times (V_{BR0} - V_0)$  e também a quantidade de soluto adsorvida na Fase II, que corresponde à área do retângulo  $C_0 \times (V_{eq} - V_{BR0})$ . A quantidade total de soluto adsorvida na fase estacionária é portanto:  $C_0 \times (V_{BR0} - V_0) + C_0 \times (V_{eq} - V_{BR0}) = C_0 \times (V_{eq} - V_0)$  [54,62-64].

## 6.4. Adsorção por SPE – Conceitos Genéricos

A extração em fase sólida (SPE) é, um método de extração que utiliza uma fase sólida e uma fase líquida para isolar um componente de interesse. A SPE geralmente é utilizada para purificar uma amostra antes de utilizar um método de análise cromatográfica, ou também para quantificar a quantidade de soluto na amostra. A fase estacionária é contida numa coluna de plástico (normalmente tem 1-10 mL de capacidade, ver Figura 6.11). A coluna normalmente contém um filtro no fundo, de modo a não permitir que a fase estacionária (adsorvente) passe através da válvula de passagem. Também é necessário controlar o fluxo de solvente através da válvula [36,65].

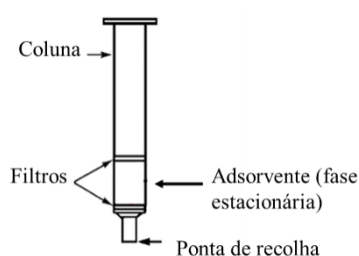


Figura 6.11 – Representação de uma coluna de extração em fase sólida [36].

Esta técnica é dividida em 4 etapas fundamentais (ver Figura 6.12): o condicionamento, a adsorção dos componentes da amostra em estudo, a lavagem da coluna e, por fim, a eluição dos componentes retidos no adsorvente [36,65]:

### a) Acondicionamento

A primeira etapa da SPE é necessária para tornar a solução aquosa e as partículas adsorventes compatíveis. O primeiro solvente a eluir tem como objetivo purificar a coluna de eventuais impurezas e homogeneizar a fase estacionária para eluição da amostra.

### b) Adsorção

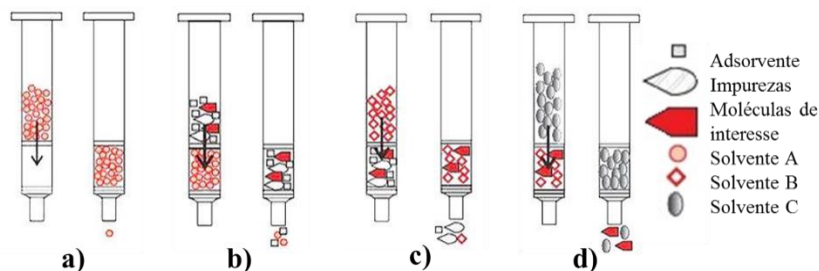
A solução aquosa (amostra) passa através da coluna de extração utilizando uma bomba de vácuo. O fluxo aquoso deve ser realizado de forma lenta (1-2 gotas/seg.), para que toda a fase estacionária seja uniformemente utilizada.

### c) Lavagem

Após a adsorção da amostra faz-se atravessar pela coluna uma nova quantidade de solução semelhante ao solvente da amostra. Esta etapa tem por finalidade eliminar de modo mais eficiente algumas impurezas contidas na fase estacionária.

#### d) Eluição

Eluição constitui o último passo da técnica da SPE e consiste na passagem de um solvente adequado capaz de romper as interações existentes entre a fase estacionária e a amostra. Este passo deve ser o mais lento possível para garantir uma recolha quantitativa do soluto retido.



**Figura 6.12** – Representação esquemática das 4 fases da extração em fase sólida. **a)** Acondicionamento; **b)** Adsorção; **c)** Lavagem; **d)** Eluição [36].

A extração em fase sólida é um método de preparação de amostras muito utilizado, porque é bastante simples, rápido, de fácil execução e económico.

## 6.5. Testes Realizados

Neste subcapítulo apresentam-se as experiências realizadas referentes à adsorção e dessorção de fármacos a partir dos hidrogéis sintetizados no capítulo 3 (ver Tabela 3.1 e 3.2), redes de polímeros convencionais e redes de polímeros interpenetrantes.

Para a realização destes testes considerou-se como estímulos a variação da temperatura (numa gama próxima da fisiologia humana), a variação do pH e a combinação simultânea da variação desses dois parâmetros.

Numa primeira fase realizou-se testes baseados no método de SPE, este método para além de rápida execução, oferece uma estimativa do fármaco adsorvido pelo adsorvente, de forma a verificar se o fármaco tem ou não afinidade com o adsorvente (hidrogel). Este método também foi utilizado com o intuito de se verificar qual dos hidrogéis apresentava maior afinidade e melhor comportamento às condições submetidas, para ser testado posteriormente por um método mais eficiente e confiável quanto à quantificação de fármaco adsorvido.

Portanto, numa segunda fase, foram executados os testes por análise frontal, que em relação ao anterior se revela mais moroso, minucioso e economicamente dispendioso. No entanto, é dos métodos mais eficientes para quantificar o fármaco adsorvido pelo

adsorvente, assim como para quantificar o fármaco libertado num processo inverso à adsorção.

## 6.5.1. Experiências Realizadas por SPE

### 6.5.1.1. Procedimento Experimental

Os testes SPE foram efetuados por dois métodos diferentes, o primeiro difere do segundo apenas na etapa de acondicionamento. Na primeira série de testes não foi considerada esta etapa. Na segunda série, o acondicionamento foi realizado com água DI ou com uma solução semelhante às condições testadas.

Na **primeira série** foram considerados sete hidrogéis diferentes e seis fármacos. Foram usados diferentes estímulos, nomeadamente a variação do pH e da temperatura.

Nesta fase, na primeira experiência foi utilizada uma solução com a concentração de 2 mM de 3-APy, 5-FU, INH, ADR, CAF e Na-IBU e os hidrogéis utilizados foram os sintetizados no capítulo 3 (ver Tabela 3.1). As quantidades utilizadas são apresentadas no Anexo 31. De modo a ter uma referência, uma pequena quantidade da solução de cada fármaco foi medido por UV antes de ser colocada com o hidrogel. De seguida, os hidrogéis foram colocados numa coluna com 10 mL de solução de cada fármaco, as quantidades de soluções aquosas efetivas podem ser consultadas também no Anexo 31. Passado 24 hr as válvulas do equipamento foram abertas por forma a fazer passar uma gota de cada vez (o mais lento possível). A solução aquosa foi recolhida num frasco que se encontrava por baixo de cada ponta de recolha. Este processo só é possível porque o equipamento encontra-se ligado a uma bomba de vácuo para extrair toda a solução aquosa. De seguida, foi medida a absorvância de cada uma das soluções recolhidas por UV para conhecer a nova concentração e, assim, calcular a fração de fármaco que ficou retida na rede de polímero. A fração adsorvida é obtida pela seguinte equação,

$$\alpha = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \quad (6.4)$$

Onde,  $A_0$  é a absorvância da solução inicial (mãe),  $A_1$  é a absorvância da solução aquosa após o processo de adsorção e  $\alpha$  é a fração de fármaco adsorvido pelo polímero.

Na última etapa foram colocados cerca de 10 mL água DI, de modo a verificar se ocorre libertação do fármaco retido na rede polimérica nas mesmas condições. A fração libertada é obtida pela seguinte equação,

$$\beta = \frac{A_2}{A_0 - A_1} \quad (6.5)$$

Onde,  $A_0$  é a absorvância da solução inicial (mãe),  $A_1$  é a absorvância da solução aquosa após o processo de adsorção,  $A_2$  é a absorvância da solução aquosa após passar água DI e,  $\beta$  é a fração de fármaco libertado pelo polímero.

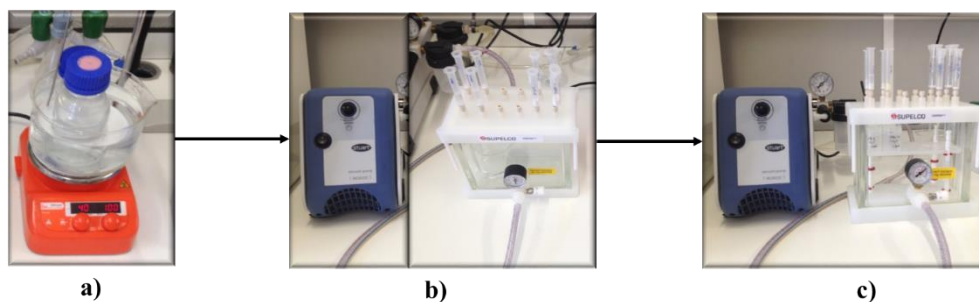
A segunda e terceira experiência foram realizadas de igual forma, mas considerando soluções de fármacos com pH 2 e pH 10, respetivamente. A quarta experiência também foi realizada de forma equivalente mas as amostras foram submetidas a uma temperatura de 40 °C. A quantidade de massa de hidrogel e o volume de solução utilizado na segunda, terceira e quarta experiência são apresentados nos Anexos 32 a 34. No fim de cada experiência foi pesada a massa de hidrogel inchada, para calcular a razão de inchamento de cada hidrogel na presença de cada fármaco nas diferentes condições. A razão de inchamento é obtida pela Equação 4.1.

A **segunda série** foi realizada apenas com quatro hidrogéis e quatro fármacos, também submetidos a diferentes estímulos. Foram efetuadas quatro experiências todas de igual forma, variando apenas as condições das soluções aquosas consideradas em cada caso.

Na primeira experiência foi utilizada uma solução com a concentração de 0,1 mM de 5-FU, CAF, Na-IBU e 3-APy e, os hidrogéis utilizados foram os sintetizados no capítulo 3 (ver Tabela 3.1), as quantidades utilizadas são apresentadas no Anexo 35. De forma a ter uma referência, uma pequena quantidade da solução de cada fármaco foi medida por UV antes de ser colocada no hidrogel. Os hidrogéis foram colocados numa coluna fazendo passar água DI até que a fase estacionária estivesse uniforme para realizar a etapa seguinte. Após a etapa de acondicionamento, colocou-se um 1 mL de cada uma das soluções de fármacos sobre cada coluna e as válvulas do equipamento foram abertas por forma a passar uma gota de cada vez para recolher a solução aquosa num frasco que se encontra por baixo de cada ponta de recolha. De seguida, foi medida a absorvância de cada uma das soluções por UV para estimar a fração de fármaco que ficou retida na rede de polímero. Uma segunda etapa é efetuada novamente com mais 1 mL de solução de cada fármaco, que é recolhida novamente no mesmo frasco para se efetuar nova leitura

de absorvância e, assim, calcular nova fração adsorvida pelo adsorvente. Por último, foi realizada a libertação do fármaco com água DI (usando mesma quantidade de solução que se colocou na fase da adsorção), de modo a verificar se o hidrogel é capaz de libertar o fármaco nas mesmas condições.

A segunda e terceira experiência foram realizadas com base no procedimento anterior, diferindo apenas nas condições das soluções de fármacos, um foi efetuado a pH 2 e o outro a pH 10. A quarta experiência foi realizada a uma temperatura de 40 °C, tendo as soluções dos fármacos, assim como a água DI sido aquecidas previamente. A quantidade de massa de hidrogel e o volume de solução utilizado na segunda, terceira e quarta experiência são apresentados nos Anexos 36 a 38. Na Figura 6.13 é possível observar as etapas principais da adsorção de fármaco por SPE a 40 °C.



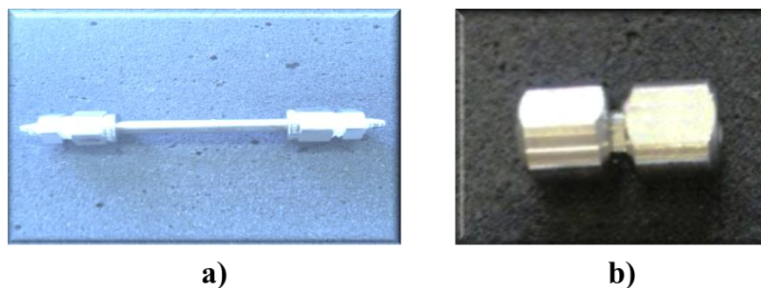
**Figura 6.13** – Etapas principais da realização de um teste pelo equipamento SPE. **a)** Aquecimento prévio das soluções a 40 °C; **b)** O acondicionamento tem por objetivo homogeneizar a fase estacionária (hidrogel) para a etapa seguinte; **c)** Adsorção, colocação da solução de fármaco em cada uma das colunas e recolha da solução aquosa através da ponta de recolha com o auxílio da bomba de vácuo.

### 6.5.2. Experiências Realizadas por Análise Frontal

Os testes da análise frontal foram realizados com redes de polímero convencionais e com redes de polímero interpenetrantes. Todos os ensaios com CPNs seguiram o mesmo procedimento e foram todos submetidos às mesmas condições de temperatura (20 °C) e a pH neutro. Quanto às redes de polímero interpenetrantes (IPNs), estas foram sujeitas a combinações diferentes de temperatura e pH. Estas redes de polímero são potencialmente sensíveis ao pH como à temperatura, em simultâneo. Tentou-se assim avaliar o efeito que estas condições exercem sob as redes poliméricas aquando o processo de adsorção/dessorção de fármacos.

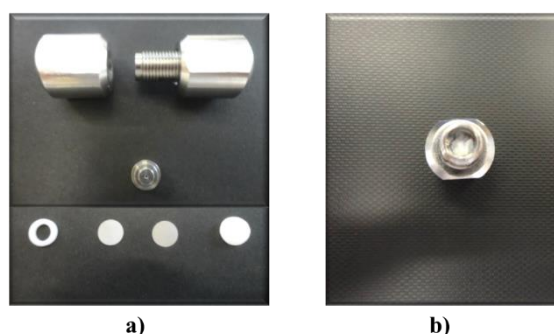
### 6.5.2.1. Empacotamento das colunas

Nesta fase foram utilizadas duas colunas de enchimento diferentes. Para realizar os testes dos CPNs a coluna utilizada apresenta 5 mm de diâmetro interno ( $D$ ) e 80 mm de comprimento ( $L$ ), correspondendo a um volume ( $V$ ) de 1,57 mL (ver Figura 6.14 a)). A coluna utilizada para efetuar os testes dos IPNs tem 4,6 mm de diâmetro interno e 10 mm de comprimento, tendo um volume de 0,166 mL (ver Figura 6.14 b)).



**Figura 6.14** – Colunas de enchimento utilizadas nos testes de análise frontal. **a)** Coluna utilizada nos testes de injeção, adsorção e dessorção de fármacos nos CPNs; **b)** Coluna utilizada nos testes de injeção, adsorção e dessorção de fármacos nos IPNs.

Este processo inicia-se com a abertura de uma das extremidades da coluna para colocar o hidrogel seco no seu interior, a quantidade de hidrogel seco a colocar é previamente calculada pelas equações abaixo indicadas. Em cada uma das extremidades da coluna existe um filtro e dois *frits* (ver Figura 6.15) estes elementos servem para evitar a passagem do hidrogel e/ou eventuais impurezas contidas nos solventes quando o sistema é acionado.



**Figura 6.15** – Ilustração do empacotamento de uma coluna. **a)** Estrutura da coluna; **b)** Coluna com o hidrogel já empacotado.

O volume da coluna acima referido é calculado pela Equação 6.6, sabendo-se o volume da coluna e a razão de inchamento ( $SR$ ) dos hidrogéis (obtidas no Capítulo 4) consegue-se estimar a quantidade de hidrogel seco (ver Equação 6.7) necessário para ocupar todo

o volume de enchimento. Tendo o volume de enchimento, através da densidade do hidrogel (considerou-se em primeira aproximação igual  $1 \text{ g/cm}^3$ ) obtém-se massa de hidrogel seco.

$$V = \frac{\pi \times D^2}{4} \times L \quad (6.6)$$

$$V_e = \frac{V}{SR} \text{ e } \rho = \frac{m}{V_e} \quad (6.7)$$

Após o empacotamento, a coluna é integrada no sistema GPC. Durante 24 hr faz-se circular no sistema do GPC água filtrada a um caudal de  $0,1 \text{ mL/min}$ , com o objetivo de acondicionar o hidrogel no interior da coluna dado que é conhecido o seu inchamento na presença deste solvente.

É de salientar, que aquando o acondicionamento do IPN 4, a pressão máxima ( $10 \text{ MPa}$ ) foi excedida. Tentou-se diminuir a massa de hidrogel seco para verificar se era possível continuar o processo, no entanto a pressão máxima continuou a ser excedida. Conclui-se que o hidrogel apresenta características adesivas, isto é, adere facilmente às extremidades da coluna criando assim elevados picos de pressão. Portanto, com este método não foi possível testar no IPN 4, assim como o IPN 2, IPN 3, IPN 5 e IPN 7, visto que, também apresentam propriedades semelhantes ao anterior.

### 6.5.2.2. Injeção, Saturação e Dessorção dos fármacos

Estes testes foram realizados em três etapas fundamentais, injeção, adsorção e libertação do fármaco.

Na primeira etapa foram injetados (pelo mecanismo de injeção automática do GPC) cerca de  $100 \text{ }\mu\text{L}$  das soluções aquosas dos diferentes fármacos. Por forma a avaliar o efeito dos hidrogéis na retenção dos diferentes tipos de biomoléculas, para cada fármaco foi realizada uma injeção com e sem coluna contendo o hidrogel. Os testes com as redes de polímeros convencionais foram realizados considerando o sistema GPC a operar a uma temperatura de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Com as redes de polímero interpenetrantes o sistema do GPC operou a uma temperatura de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  e também a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ .

A saturação tem por objetivo analisar a capacidade que o hidrogel tem para adsorver um certo fármaco a uma determinada concentração. Antes de iniciar esta etapa é necessário purgar a tubagem localizada entre o reservatório e a entrada da coluna. Este passo é

realizado para garantir que não se faz a alimentação com uma mistura de duas soluções. Para efetuar a purga da tubagem considera-se um ponto à entrada da coluna. A bomba do GPC é acionada durante um pequeno período de tempo por forma a eliminar 40/50 mL da solução líquida presente na tubagem, normalmente designada por volume morto. De seguida, a coluna é novamente ligada ao sistema do GPC para iniciar o teste de adsorção, (realizado a um caudal de 0,5 mL/min ou 0,15 mL/min), sendo que o valor do caudal selecionado no teste de adsorção é escolhido por forma a evitar excesso de pressão no sistema de GPC. A retenção do fármaco no hidrogel presente na coluna é medida pelo detetor UV e registada no sistema de aquisição de dados do GPC. O teste finaliza quando o hidrogel presente na coluna atinge a saturação, ou seja, é incapaz adsorver mais fármaco e, por sua vez, a concentração à saída da coluna passa a ser constante.

Na libertação (dessorção) do fármaco parte-se do hidrogel no estado de saturação, e esta etapa é realizada de forma inversa à anterior. A bomba do GPC é desligada, o reservatório é alterado para água filtrada e, à entrada da coluna, é feita nova purga da tubagem, removendo cerca de 40/50 mL de solução líquida. A coluna é novamente ligada ao sistema do GPC, a bomba é acionada com o mesmo caudal utilizado na saturação e inicia-se o teste de libertação. A libertação do fármaco no hidrogel presente na coluna é medida pelo detetor UV e registada no sistema de aquisição de dados do GPC. O processo de dessorção termina quando nos detetores é medida a presença de água pura, o sinal UV registado tende para zero.

Os testes de adsorção e dessorção foram realizados com o sistema do GPC a operar a temperaturas de 20, 25 e 40 °C, da mesma forma que se operou na etapa de injeção.

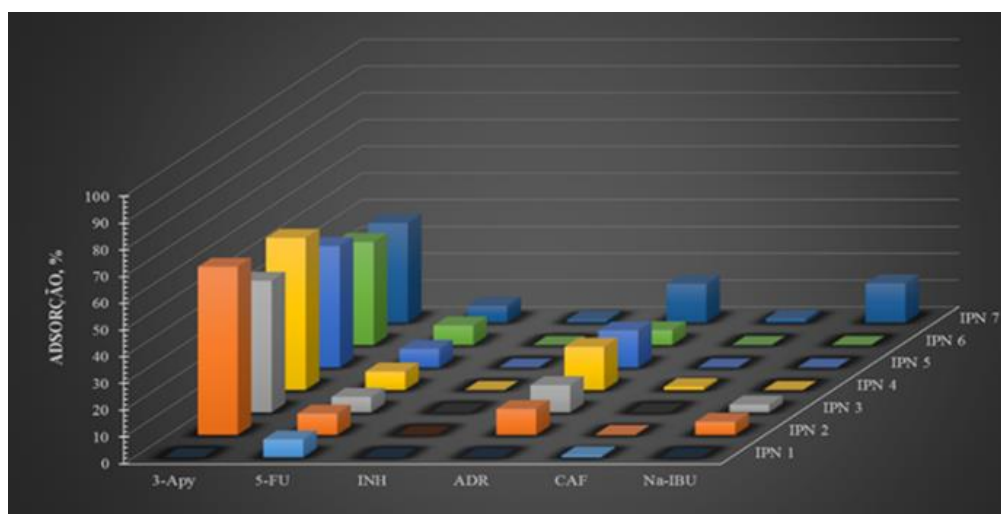
## **6.6. Resultados Obtidos e Discussão**

Nesta subsecção apresenta-se alguns resultados obtidos pelo método de SPE e por análise frontal na adsorção/libertação de diferentes fármacos em diferentes hidrogéis. É aqui também feita uma discussão dos resultados obtidos e analisados os efeitos da composição química dos monómeros utilizados na síntese dos hidrogéis, assim como a dos fármacos considerados.

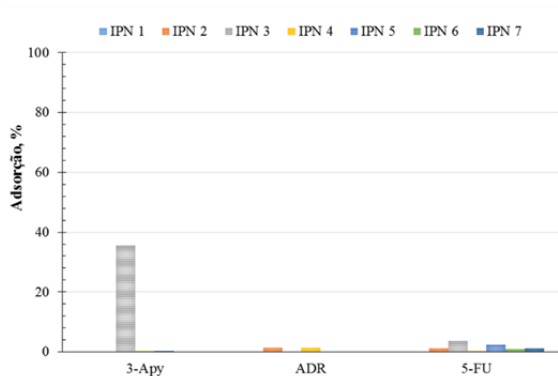
### 6.6.1. Resultados Obtidos por SPE

Como foi descrito no procedimento experimental foram realizados testes por dois métodos distintos para obter a fração de fármaco adsorvido e libertado pelo hidrogel em modo contínuo.

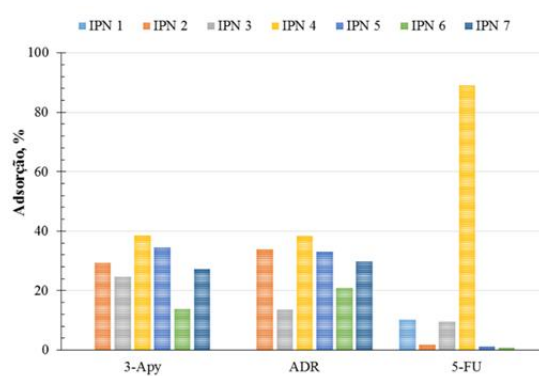
A Figura 6.16 mostra a fração de diferentes fármacos adsorvidos em diferentes hidrogéis à temperatura de 20 °C e a pH neutro. É observada uma diferença bastante acentuada da quantidade adsorvida pelos diferentes hidrogéis. Pode-se verificar que alguns hidrogéis apresentam uma baixa afinidade com a cafeína, isoniazida e o sal de sódio de ibuprofeno. Tal facto deve-se às características químicas dos hidrogéis e dos fármacos. Um composto ácido tem maior afinidade com um composto alcalino e vice-versa. Neste caso em concreto, a 3-APy é o fármaco que apresenta maior afinidade com os hidrogéis em estudo, este fármaco tem características alcalinas logo terá maior afinidade com grupos ácidos presentes nos hidrogéis. Os hidrogéis IPNs são baseados em ácido acrílico e NIPA, sendo o grupo ácido presente no AA responsável pela associação ao grupo básico presente na 3-APy. Por outro lado, os hidrogéis em contacto com as soluções aquosas contendo fármacos em meio ácido mostram baixa fração de adsorção, enquanto que em meio básico apresentam elevadas quantidades de adsorção. Denota-se que os hidrogéis aniónicos sintetizados são sensíveis ao pH, logo em meio ácido têm tendência a contrair e em meio básico a inchar (ver Anexos 40 e 41, com a razão de inchamento dos diferentes hidrogéis em soluções aquosas dos diferentes fármacos a pH 2,94 e pH 9,75) o que origina o aumento da quantidade adsorvida em meio básico, conforme representado nas Figuras 6.17 e 6.18.



**Figura 6.16** – Comparação da fração de fármaco adsorvida em diferentes hidrogéis colocados em soluções aquosas a pH neutro (~7) à temperatura de 20 °C.

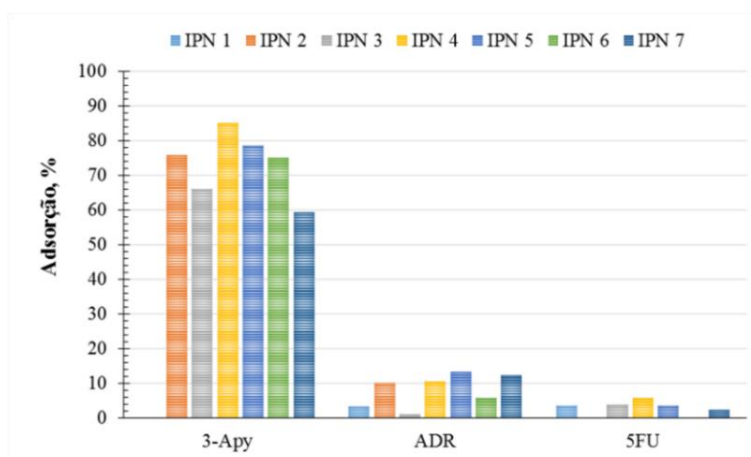


**Figura 6.17** – Comparação da fração de fármaco adsorvida em diferentes hidrogéis colocados em soluções aquosas a pH ácido (2,94) à temperatura de 20 °C.



**Figura 6.18** – Comparação da fração de fármaco adsorvida em diferentes hidrogéis colocados em soluções aquosas a pH alcalino (9,75) à temperatura de 20 °C.

Também foi estudada a fração de adsorção dos diferentes fármacos nos diferentes hidrogéis à temperatura de 40 °C (ver Figura 6.19). Este estudo apresentou resultados bastante favoráveis com a 3-APy que relativamente aos outros fármacos apresenta uma fração de adsorção significativa. Apesar dos hidrogéis terem NIPA na sua constituição, este facto não mostrou muita influência nos resultados. Sabe-se que as redes NIPA a partir de uma temperatura acima dos 36 °C têm tendência a contrair (ver Anexo 42, com a razão de inchamento dos diferentes hidrogéis a uma temperatura de 40 °C considerando os diferentes fármacos) que poderá gerar a diminuição da quantidade adsorvida.



**Figura 6.19** – Comparação da fração de fármaco adsorvida em diferentes hidrogéis colocados em soluções aquosas a pH neutro (~7) à temperatura de 40 °C.

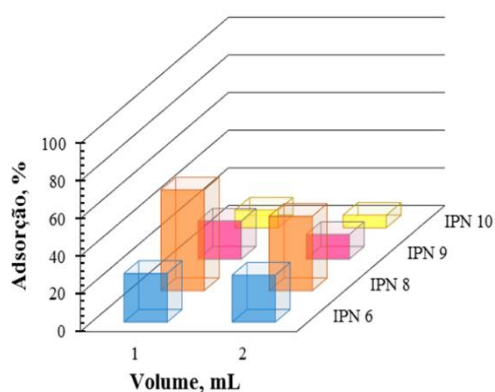
Após os testes de adsorção foram efetuados os testes de libertação correspondentes a cada uma das condições utilizadas na etapa anterior. Com os resultados obtidos é possível verificar que muitas das vezes é difícil obter a libertação completa do fármaco

nas mesmas condições que foi adsorvido. Os gráficos referentes a estes testes podem ser consultados nos anexos deste trabalho (ver Anexos 39 a 42).

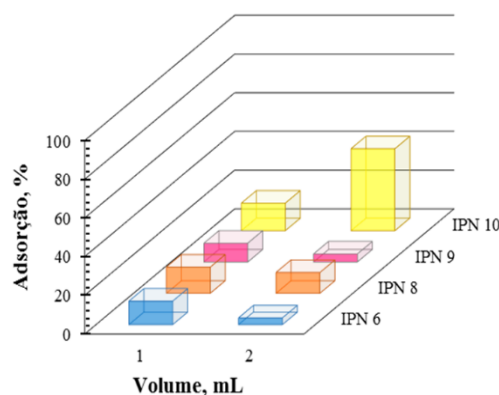
Os testes da **segunda série** apresentam resultados de acordo com o esperado. Nas Figuras 6.20, 6.21, 6.22 e 6.23 apresenta-se graficamente a fração adsorvida do mesmo fármaco em 4 hidrogéis IPNs diferentes expostos a estímulos diferentes, nomeadamente à variação do pH e da temperatura.

Comparando os resultados verifica-se que o gráfico da Figura 6.22 apresenta resultados satisfatórios no caso da adsorção do 3-APy. Os hidrogéis IPNs são compostos por grupos aniónicos, catiónicos e anfotéricos logo apresentam uma certa sensibilidade ao pH. No entanto, também respondem a estímulos com a temperatura devido à NIPA presente na sua constituição. Sendo assim os grupos aniónicos presentes nos hidrogéis tem tendência a ligarem-se aos grupos básicos da molécula 3-APy apresentando assim elevada afinidade entre o fármaco e o hidrogel. Note-se que os testes de adsorção são fortemente influenciados pela força iónica e não só pelo pH.

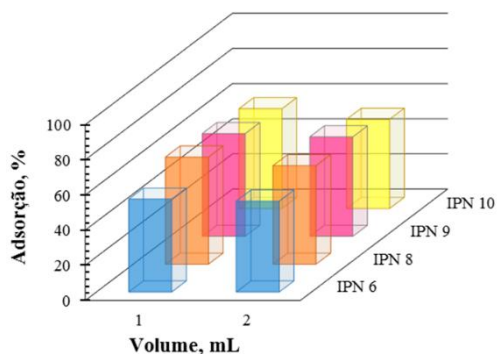
Os resultados relativos aos outros testes com outros fármacos podem ser consultados nos anexos deste trabalho (ver Anexos 44 a 46). Também apresentam frações de adsorção semelhantes ao anterior, em meio ácido tendem a contrair logo a fração de adsorção será mínima em básico será mais elevada, nas condições normais será mais elevada nas situações em que o hidrogel apresenta características ácidas e o fármaco básicas. No entanto o contrário também se observa como é o caso do sal de sódio de ibuprofeno com o hidrogel IPN 9 e 10. Nestes IPNs existe um carácter catiónico (conferido pelo monómero DMAEMA) que favorece a associação com fármacos carregados negativamente como o sal de sódio de ibuprofeno.



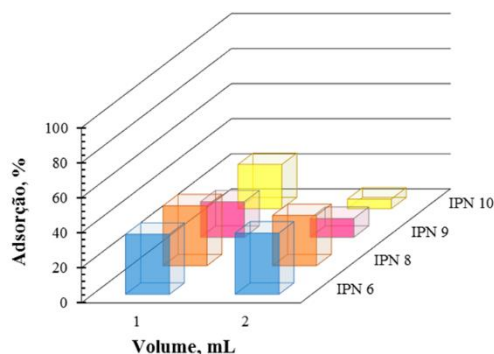
**Figura 6.20** – Fração de fármaco (3-APy) retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução. Condições de teste: pH neutro (~7) e temperatura de 25 °C.



**Figura 6.21** – Fração de fármaco (3-APy) retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução. Condições de teste: pH ácido (1,7) e temperatura de 25 °C.



**Figura 6.22** – Fração de fármaco (3-APy) retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução. Condições de teste: pH alcalino (10) e temperatura de 25 °C.



**Figura 6.23** – Fração de fármaco (3-APy) retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução. Condições de teste: pH neutro (~7) e temperatura de 40 °C.

Após os testes de adsorção foram efetuados os testes de libertação correspondentes a cada uma das condições utilizadas na primeira etapa. Com os resultados obtidos pode-se também verificar que muitas das vezes é difícil obter a libertação completa do fármaco nas mesmas condições que foi adsorvido. Os gráficos referentes a estes testes podem ser consultados nos anexos deste trabalho (ver Anexos 43 a 46). Nestes casos seria necessário considerar outro solvente capaz de quebrar as associações hidrogel/fármaco.

### 6.6.2. Resultados Obtidos por Análise Frontal

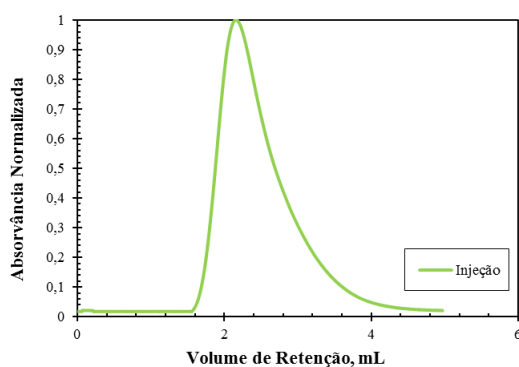
Estes testes foram realizados inicialmente com diferentes hidrogéis CPNs e diferentes fármacos, utilizando soluções aquosas de cada fármaco de 0,1 mM. Todos os testes foram operados nas mesmas condições. Relativamente aos testes realizados com o hidrogel IPN 6 apenas foram considerados o 5-FU e 3-APy, operando em condições diferentes, nomeadamente de temperatura e pH. Estes testes foram realizados com o intuito de observar o comportamento do hidrogel em termos da adsorção e dessorção dos fármacos em meios envolventes diferentes.

Nas Figuras 6.24 a 6.28 são apresentados os testes de adsorção (saturação) e dessorção (libertação) com uma solução aquosa de 5-fluoruracilo em redes poliméricas convencionais baseadas em ácido acrílico. Nas Figuras 6.25 e 6.26 é possível observar a dinâmica de adsorção e dessorção do fármaco na presença de redes poliméricas baseadas em ácido acrílico. Como é visível na Figura 6.27 existe uma relação entre adsorção e dessorção. O efeito degrau é visível em ambos os casos, gerando assim um patamar próximo do ideal. Porém, é de salientar que o hidrogel leva mais tempo a saturar do que a libertar o fármaco.

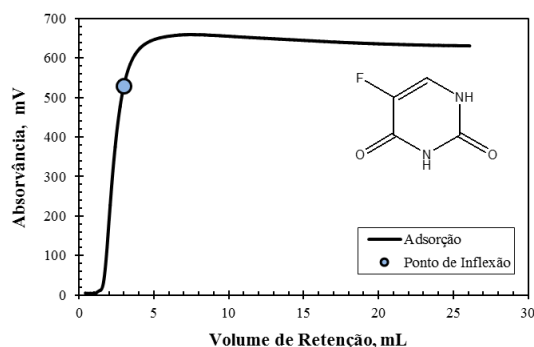
Relativamente aos outros testes apresentam resultados semelhantes no que diz respeito ao aspeto da curva (efeito degrau). No entanto com a THY em redes baseadas em ácido acrílico e com a CAF em redes baseadas em DMAEMA, existe uma pequena oscilação durante a saturação e a libertação, provavelmente devido ao inchamento do hidrogel na presença destas biomoléculas. Estes resultados podem ser consultados nos anexos deste trabalho (ver Anexos 47 a 53).

O ponto representado na figura da saturação do hidrogel na presença de 5-FU e libertação do mesmo determina o volume equivalente, e por sua vez a quantidade exata de fármaco adsorvido e libertado. O volume equivalente é obtido através da igualdade das áreas como já foi referido anteriormente. Para obter a igualdade entre as áreas utilizou-se o *software Mathworks Matlab®* de modo a desenvolver uma ferramenta de auxílio ao cálculo do volume equivalente e posterior cálculo da quantidade adsorvida e libertada. O código desenvolvido foi utilizado para obter a quantidade de fármaco adsorvido e libertado em todos os testes realizados. Nas Tabelas 6.1 e 6.2 são apresentados todos os testes de adsorção e dessorção realizados com os diferentes fármacos nos diferentes hidrogéis CPNs, apresentando-se também as quantidades de adsorção e libertação dos fármacos calculadas através do volume equivalente.

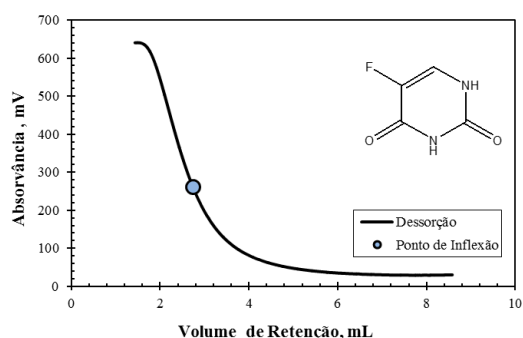
Após análise das Tabelas 6.1 e 6.2, conclui-se que as redes convencionais em ácido acrílico, de um modo geral, são as que apresentam maior afinidade com os fármacos e assim como libertam maiores quantidades de fármaco. Mais uma vez, estes resultados deverão estar associados à interação entre hidrogel e fármaco.



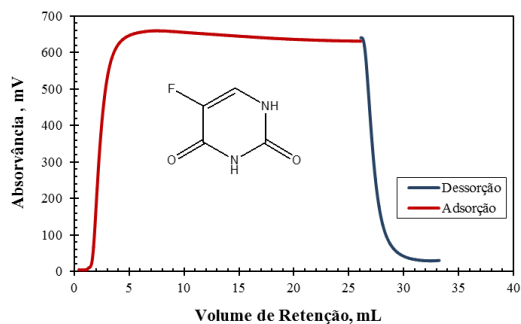
**Figura 6.24** – Perfil de injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.



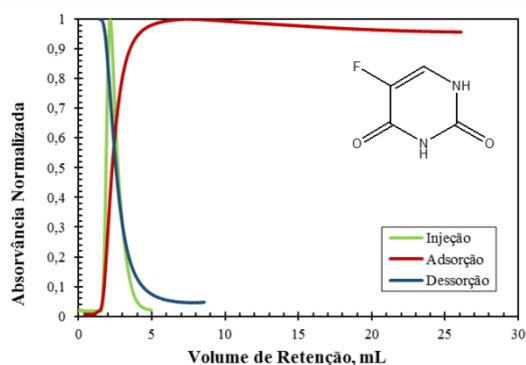
**Figura 6.25** – Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.



**Figura 6.26** – Perfil de desorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.

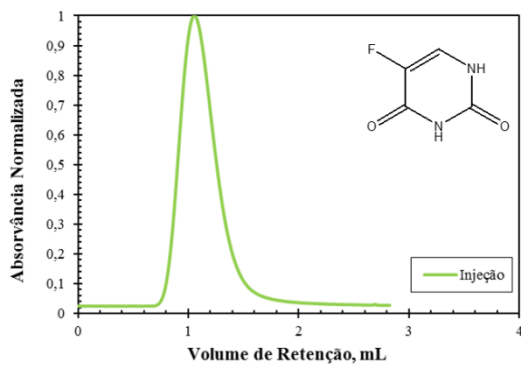


**Figura 6.27** – Perfil de adsorção de desorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.

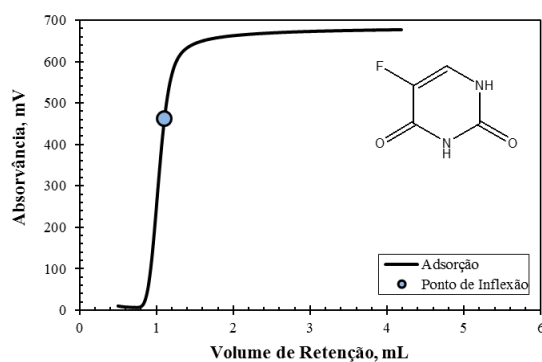


**Figura 6.28** – Perfil de adsorção, desorção e injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.

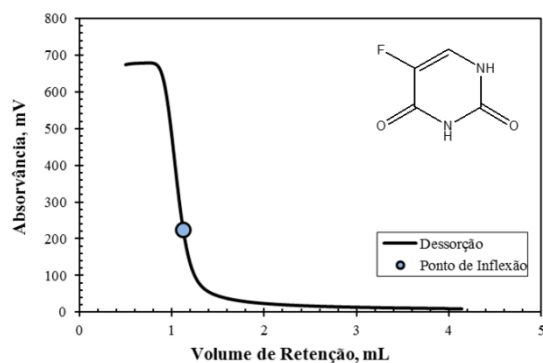
Nas Figuras 6.29 a 6.33 são apresentados os testes de adsorção (saturação) e desorção (libertação) com uma solução aquosa de 5-fluoruracilo em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em ácido acrílico e NIPA em condições normais (pH neutro e temperatura de 25 °C). Pelas Figuras 6.30 e 6.31 é possível observar a dinâmica de adsorção e desorção do fármaco na presença de redes poliméricas baseadas em ácido acrílico e NIPA. O comportamento do hidrogel IPN é muito semelhante à rede convencional baseada em ácido acrílico na presença deste fármaco. Pela Figura 6.32 verifica-se que existe uma relação entre adsorção e desorção, o patamar entre ambos encontra-se bem definido, no entanto o hidrogel leva mais tempo a saturar do que a libertar o fármaco.



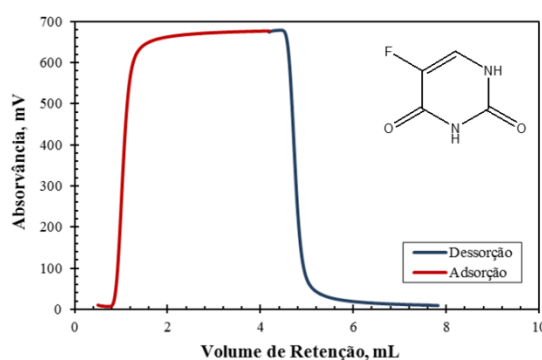
**Figura 6.29** – Perfil de injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.



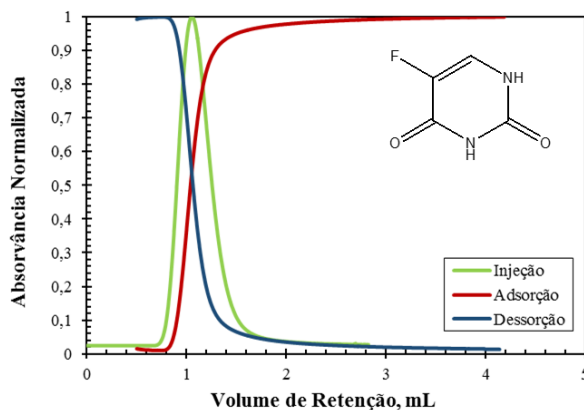
**Figura 6.30** – Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.



**Figura 6.31** – Perfil de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.



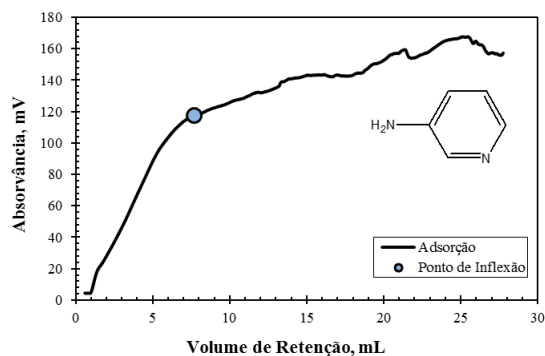
**Figura 6.32** – Perfil de adsorção e dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.



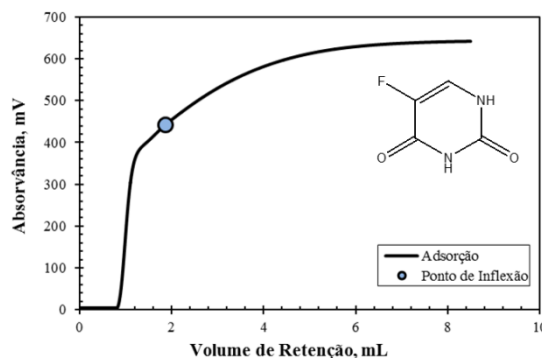
**Figura 6.33** – Perfil de injeção, adsorção e dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA.

Os restantes testes apresentam resultados semelhantes no que diz respeito ao aspeto das curvas. No entanto, com 3-APy e 5-FU em redes baseadas em AA+NIPA considerando pH neutro e uma temperatura de 40 °C existem pequenas oscilações durante teste adsorção, provavelmente devido ao inchamento do hidrogel na presença destas biomoléculas fazendo variar a pressão (ver Figuras 6.34 e 6.35). Também é de referir

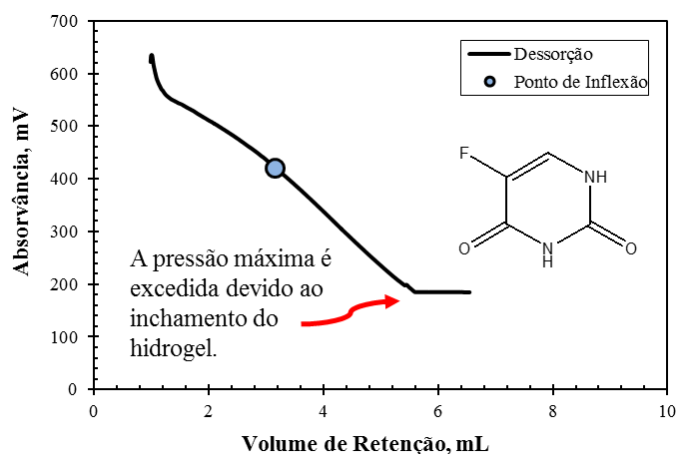
que no teste de libertação do 5-FU a pH 10 e a uma temperatura de 40 °C a pressão máxima foi excedida devido ao inchamento do hidrogel dado as condições envolvidas (ver Figura 6.36). Os restantes resultados desta série de testes podem ser consultados nos anexos deste trabalho (ver Anexos 54 a 58).



**Figura 6.34** – Perfil de adsorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA. Condições de teste: pH 7 e temperatura de 40 °C.



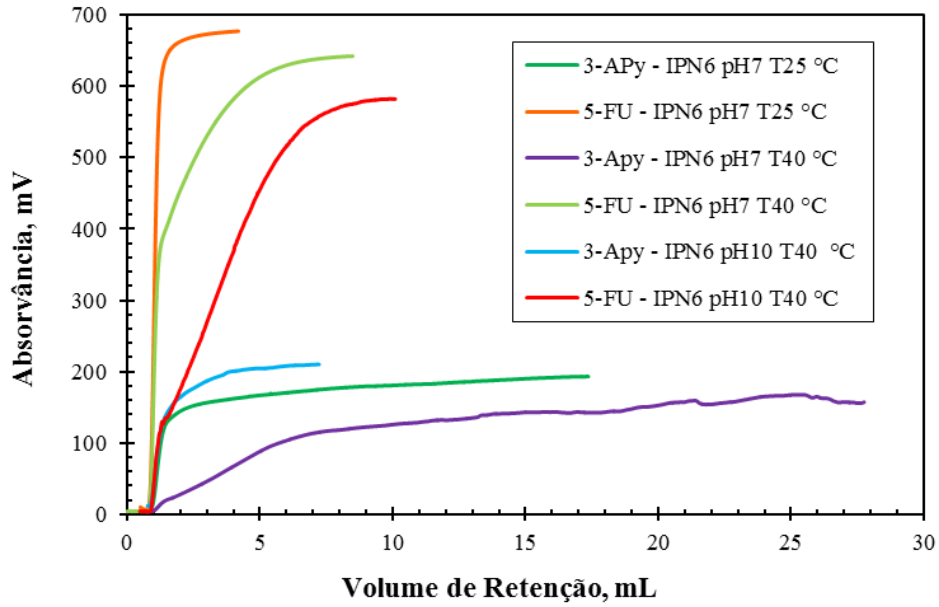
**Figura 6.35** – Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA. Condições de teste: pH 7 e temperatura de 40 °C.



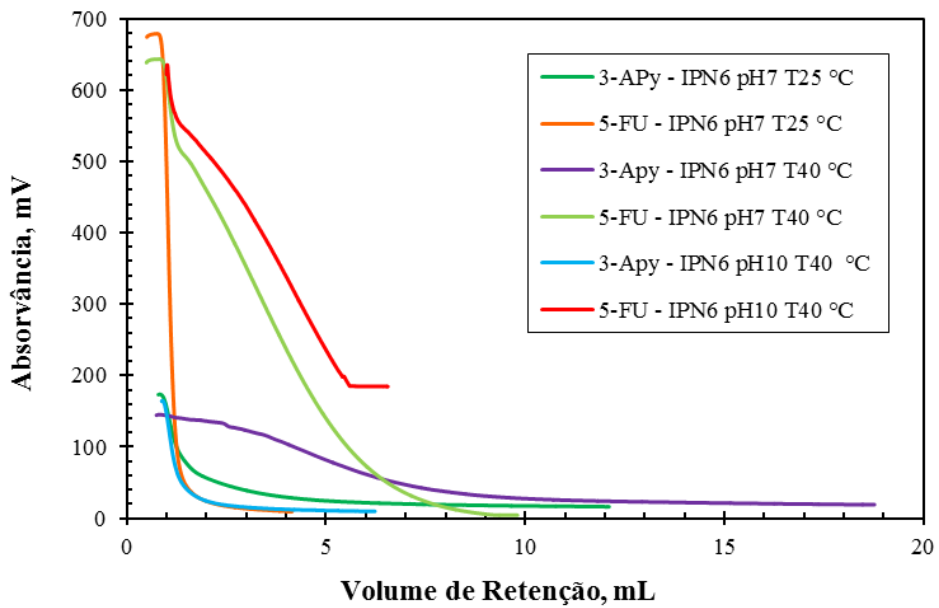
**Figura 6.36** – Perfil de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA. Condições de teste: pH 10 e temperatura de 40 °C.

Nas Figuras 6.37 e 6.38 apresentam-se os resultados de adsorção e dessorção de ambos os testes feitos com o hidrogel IPN nas várias condições testadas.

Pela análise dos perfis de adsorção, com 3-APy a uma temperatura de 40 °C e pH neutro o hidrogel IPN 6 demora mais tempo atingir o estado de saturação. O mesmo acontece com o perfil de libertação, parecendo indicar uma forte afinidade fármaco/hidrogel nestas condições. Globalmente, os resultados apresentados nas Figuras 6.37 e 6.38 mostram a possibilidade de estimular a adsorção/dessorção de fármacos em IPNs por efeito do pH/T, o que é um resultado relevante nesta investigação.



**Figura 6.37** – Perfis observados para os testes de saturação de 5-FU e 3-APy em redes de polímeros interpenetrantes baseadas em AA+NIPA sujeitas a diferentes condições envolventes.



**Figura 6.38** – Perfis observados para os testes de liberação de 5-FU e 3-APy em redes de polímeros interpenetrantes baseadas em AA+NIPA sujeitas a diferentes condições envolventes.

**Tabela 6.1** – Resumo dos resultados obtidos com a análise de diferentes combinações entre redes de polímeros convencionais e fármacos (testes de saturação).

Hidrogel CPN	Razão Inchamento (SR)	Massa Seca Empacotada (mg)	Fármaco	$C_0$ (mM)	Q (mL/min)	Volume Geométrico da Coluna $V_G$ (mL)	Volume de Vazio $V_0$ (mL)	Volume da Fase Estacionária $V_a$ (mL)	Volume de Área Equivalente $V_{eq}$ (mL)	Quantidade de Fármaco Adsorvida $q^*$ (mmol/mL fase estacionária)	Quantidade de Fármaco Adsorvida $q^*$ (mmol/g fase estacionária seca)
CPN 2	250	7,3	5-FU	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	2,504	0,1276	27,45
CPN 2	250	7,3	CAF	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	2,471	0,1255	27,00
CPN 3	150	15,7	5-FU	0,5	0,15	1,57	0,5	1,57	2,515	0,6419	64,19
CPN 3	150	15,7	5-FU	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	2,986	0,1583	15,83
CPN 3	150	15,7	THY	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	2,713	0,1410	14,10
CPN 3	150	15,7	UR	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	4,207	0,2361	23,61
CPN 4	5	50	5-FU	0,1	0,5	1,57	0,5	1,57	2,485	0,1264	3,969
CPN 4	5	50	CAF	0,1	0,5	1,57	0,5	1,57	2,750	0,1433	4,500

**Tabela 6.2** – Resumo dos resultados obtidos com a análise frontal de diferentes combinações entre redes de polímeros convencionais e fármacos (testes de liberação).

Hidrogel CPN	Razão Inchamento (SR)	Massa Seca Empacotada (mg)	Fármaco	$C_0$ (mM)	Q (mL/min)	Volume Geométrico da Coluna $V_G$ (mL)	Volume de Vazio $V_0$ (mL)	Volume da Fase Estacionária $V_a$ (mL)	Volume de Área Equivalente $V_{eq}$ (mL)	Quantidade de Fármaco Libertada $q^*$ (mmol/mL fase estacionária)	Quantidade de Fármaco Libertada $q^*$ (mmol/g fase estacionária seca)
CPN 2	250	7,3	5-FU	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	2,981	0,1580	33,99
CPN 2	250	7,3	CAF	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	2,690	0,1395	29,64
CPN 3	150	15,7	5-FU	0,5	0,15	1,57	0,5	1,57	2,791	0,7297	72,97
CPN 3	150	15,7	5-FU	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	2,739	0,1426	14,26
CPN 3	150	15,7	THY	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	6,948	0,4107	41,07
CPN 3	150	15,7	UR	0,1	0,15	1,57	0,5	1,57	2,587	0,1329	13,29
CPN 4	5	50	5-FU	0,1	0,5	1,57	0,5	1,57	3,111	0,1663	5,221
CPN 4	5	50	CAF	0,1	0,5	1,57	0,5	1,57	4,449	0,2515	7,899

**NOTA:** Os valores  $V_{eq}$  e  $q^*$  foram calculados nos testes de liberação para avaliar a idealidade (simetria) dos processos de adsorção e dessorção.

**Tabela 6.3** – Resumo dos resultados obtidos com a análise frontal de diferentes combinações entre IPNs e fármacos (testes de saturação).

Hidrogel IPN	Razão Inchamento (SR)	Massa Seca Empacotada (mg)	Fármaco	pH	T (°C)	C <sub>0</sub> (mM)	Q (mL/min)	VOLUME Geométrico da Coluna V <sub>G</sub> (mL)	VOLUME de Vazio V <sub>0</sub> (mL)	VOLUME da Fase Estacionária V <sub>a</sub> (mL)	VOLUME de Área Equivalente V <sub>eq</sub> (mL)	Quantidade de Fármaco Adsorvida q* (mmol/mL fase estacionária)	Quantidade de Fármaco Adsorvida q* (mmol/g fase estacionária seca)
IPN 6	>6,96	50,6	3-APy	7	25	0,1	0,5	0,166	0	0,166	2,685	1,617	5,306
	>6,96	50,6	5-FU	7	25	0,1	0,5	0,166	0	0,166	1,105	0,6659	2,185
	>11,63	50,6	3-APy	7	40	0,1	0,5	0,166	0	0,166	7,676	4,624	15,17
	>11,63	50,6	5-FU	7	40	0,1	0,5	0,166	0	0,166	1,864	1,123	3,684
	>7,33	15,6	3-APy	10	40	0,1	0,5	0,166	0	0,166	1,706	1,028	10,94
	>7,33	15,2	5-FU	10	40	0,1	0,5	0,166	0	0,166	3,443	2,074	22,65

**Tabela 6.4** – Resumo dos resultados obtidos com a análise frontal de diferentes combinações entre IPNs e fármacos (testes de libertação).

Hidrogel IPN	Razão Inchamento (SR)	Massa Seca Empacotada (mg)	Fármaco	pH	T (°C)	C <sub>0</sub> (mM)	Q (mL/min)	VOLUME Geométrico da Coluna V <sub>G</sub> (mL)	VOLUME de Vazio V <sub>0</sub> (mL)	VOLUME da Fase Estacionária V <sub>a</sub> (mL)	VOLUME de Área Equivalente V <sub>eq</sub> (mL)	Quantidade de Fármaco Libertada q* (mmol/mL fase estacionária)	Quantidade de Fármaco Libertada q* (mmol/g fase estacionária seca)
IPN 6	>6,96	50,6	3-APy	7	25	0,1	0,5	0,166	0	0,166	1,929	1,162	3,812
	>6,96	50,6	5-FU	7	25	0,1	0,5	0,166	0	0,166	1,125	0,6779	2,224
	>11,63	50,6	3-APy	7	40	0,1	0,5	0,166	0	0,166	5,456	3,286	10,78
	>11,63	50,6	5-FU	7	40	0,1	0,5	0,166	0	0,166	3,429	2,066	6,777
	>7,33	15,6	3-APy	10	40	0,1	0,5	0,166	0	0,166	1,379	0,8308	8,840
	>7,33	15,2	5-FU	10	40	0,1	0,5	0,166	0	0,166	3,168	1,908	20,84

**NOTA:** Os valores **V<sub>eq</sub>** e **q\*** foram calculados nos testes de libertação para avaliar a idealidade (simetria) dos processos de adsorção e dessorção.

## 6.7. Considerações Finais

Neste capítulo foram estudados os processos de adsorção e dessorção de fármacos em hidrogéis convencionais e IPNs considerando a operação em modo contínuo. Foram descritos os conceitos gerais associados à operação em modo contínuo, nomeadamente o empacotamento dos materiais (hidrogéis) em pequenas colunas de GPC e a sua integração num instrumento de bombagem contínua com monitorização em tempo real do sinal de UV. Foram apresentados os detalhes relativos aos processos de injeção, saturação e libertação de fármacos a partir dos hidrogéis, nomeadamente os cuidados a ter com as purgas do sistema de GPC quando se realiza a transição entre processos de saturação/libertação e libertação/saturação. Foram também descritos os fundamentos teóricos associados à quantificação dos processos de adsorção/dessorção que culmina com a determinação do volume equivalente e das quantidades de fármaco adsorvidas/dessorvidas por unidade de massa de adsorvente (massa de hidrogel empacotado nas colunas). Numa outra vertente, foram também descritos os princípios fundamentais do estudo da adsorção/dessorção de fármacos em hidrogéis (convencionais/IPNs) através de SPE. Esta técnica permite estimar de forma rápida e economicamente vantajosa (relativamente à operação num equipamento de GPC) as quantidades de fármacos adsorvidas e libertadas também em modo contínuo. Em concreto, é por exemplo possível a análise simples de materiais que geram pressões demasiado elevadas (eventualmente ultrapassando a pressão de segurança) quando empacotados e operados em colunas de GPC. De facto, esta dificuldade impediu a análise por GPC de alguns materiais porque se observou que era ultrapassada a pressão máxima do instrumento (10 MPa).

Foram testadas por SPE diferentes combinações entre IPNs e fármacos tendo sido medidas taxas de adsorção e de libertação considerando também diferentes condições para as soluções aquosas usadas (pH ácido/alcalino, temperatura de 20/40 °C). Foi desta forma identificada uma elevada afinidade entre 3-APy e a maioria dos IPNs, nomeadamente aqueles contendo AA (foram medidas taxas de retenção que podem chegar em alguns casos a cerca de 90%). Taxas de adsorção residuais foram observadas com INH e CAF, tendo sido medidas taxas de retenção relativamente baixas (comparativamente a 3-Apy) para 5-FU, ADR e IBU. Deve no entanto ser mencionado que taxas razoáveis de retenção de IBU (podendo chegar a cerca de 60%) podem ser obtidas quando considerados IPNs contendo DMAEMA. Estes resultados demonstram a

importância da estrutura química das redes na afinidade com os fármacos: a boa afinidade de redes AA com 3-APy justifica-se pela interação iônica negativa (AA)/positiva (3-APy) e boa afinidade de redes DMAEMA com IBU positiva (DMAEMA)/negativa (IBU). Adicionalmente, foi demonstrado experimentalmente que o pH e a temperatura podem potencializar o processo de adsorção. Por exemplo, a taxa de retenção de 3-APy em IPNs contendo AA é baixa a pH fortemente ácido (na ordem de 10% com pH=1,7) e aumenta substancialmente com pH alcalino (na ordem de 50% com pH=10). Inversamente com o IPN 10 (NIPA/DMAEMA) mostrou-se que é mantida uma taxa de adsorção razoável de 3-APy (cerca de 40%) a pH ácido (pH=1,7). Relações semelhantes foram observadas como nos processos de libertação, embora se deva mencionar que na grande maioria dos casos foi impossível a libertação total dos fármacos usando as mesmas soluções aquosas consideradas no processo de adsorção. Para esse efeito seria necessário utilizar solventes suficientemente fortes para quebrar as interações entre as redes e os fármacos.

A técnica de análise frontal foi utilizada para estudar a adsorção/libertação de diferentes fármacos (5-FU, CAF, THY, UR) em hidrogéis convencionais (CPN 2, CPN 3, CPN 4) e em IPNs. Neste último caso foram apenas consideradas combinações de IPN 6 com 3-APy e 5-FU dado que não foi possível operar o GPC com os restantes IPN devido ao excesso de pressão gerado no sistema. Estes testes foram realizados com diferentes valores de pH (pH=7/pH=10) e de temperatura (T=25 °C/T=40 °C). Os testes com hidrogéis convencionais voltaram a mostrar a importância da combinação adequada da estrutura química da rede com o fármaco considerado. Por exemplo, a adsorção de 5-FU ou CAF é muito maior nos hidrogéis CPN 2 (NIPA/MAA) e CPN3 (AA) comparativamente à sua retenção em CPN 4 (DMAEMA). Adicionalmente, os testes com o IPN 6 mostram a afinidade e estimulação das redes na presença dos fármacos específicos. Em concreto, foram observados aumentos significativos de pressão nas colunas durante a operação devido ao inchamento dos materiais na presença de moléculas particulares (fármacos). Foram medidas taxas de adsorção de 3-APy superiores ao observado com 5-FU, o que confirma a boa afinidade do IPN com moléculas de carácter alcalino. Adicionalmente, os resultados mostraram a potenciação da adsorção de 3-APy a pH=7 e T=40 °C o que ilustra a possibilidade de estimular as redes através da variação combinada de parâmetros da sua envolvência. Este é um resultado relevante desta investigação, mostrando que é possível considerar IPNs como materiais úteis em aplicações biomédicas.

## Capítulo 7 - Conclusão e Trabalhos Futuros

Neste trabalho foram sintetizados hidrogéis IPNs que apresentam sensibilidade simultânea, tanto ao pH como à temperatura, tendo sido também realizados testes de adsorção/dessorção em modo fechado e modo contínuo de diferentes fármacos a partir dos materiais sintetizados. Foram sintetizados IPNs através de polimerização radicalar clássica (FRP), recorrendo diferentes combinações de monómeros. Foram obtidos hidrogéis IPNs de diferentes tipos, nomeadamente aniônicos, catiónicos e anfotéricos. Foi observada sensibilidade dos materiais obtidos à variação das condições circundantes, nomeadamente variações no pH de soluções aquosas e temperatura. Demonstrou-se assim a possibilidade de fazer transitar os hidrogéis entre estados de inchamento/colapso em consequência da alteração de parâmetros selecionados. Porém, estes materiais apresentam características únicas, e assim o estudo incidiu também na investigação da adsorção e libertação de fármacos em diferentes meios envolventes, nomeadamente de 5-fluoruracilo (tratamento do cancro), 4-aminopiridina (tratamento da esclerose múltipla) e cafeína (atuador do sistema nervoso central). Nestas circunstâncias foram consideradas diferentes combinações hidrogel/estímulo/fármaco tendo em vista a procura de condições que possam promover futuras aplicações. Fizeram-se também estudos de modelação matemática, nomeadamente para a determinação de isotérmicas de adsorção (Langmuir, Freundlich, etc.) e no desenvolvimento de ferramentas de cálculo auxiliaadoras da interpretação dos resultados obtidos por análise frontal (quantificação da capacidade de adsorção e libertação) [66,67].

Numa primeira fase obtiveram-se hidrogéis IPNs de diferentes monómeros com sensibilidade a diferentes estímulos. As redes poliméricas interpenetrantes são sintetizados de forma sequencial: é sintetizada uma primeira rede de polímero que é utilizada numa fase posterior para sintetizar uma segunda rede de polímero. A segunda rede será interpenetrada na primeira rede. Desta forma, foram consideradas diferentes estratégias de interpenetração das redes de base (variação do solvente, concentrações, temperatura, iniciador, etc.). Através da análise dos espectros FTIR efetuada aos materiais sintetizados conclui-se que o processo de interpenetração ocorreu com sucesso, visto que os grupos funcionais correspondentes a cada rede parecem estar presentes na rede final (IPNs).

Foi avaliado o comportamento dos diferentes tipos de redes poliméricas interpenetrantes quando sujeitos a variações nas suas condições circundantes. Desta forma, foi medida a

razão de inchamento (SR) dos hidrogéis provocada por variações do pH e da temperatura das soluções aquosas onde se encontram colocados. Com estes estudos foi possível mostrar a possibilidade dos hidrogéis serem estimulados por parâmetros específicos de forma individual e combinada. Portanto, foi mostrado que as redes poliméricas interpenetrantes podem ser estimuladas de forma diferente através da variação do pH, variação da temperatura ou da variação de ambas paralelamente. Com a variação do pH, a razão de inchamento altera-se, em compostos aniônicos com transição contraída/inchada a pH ácido/alcalino e nos catiónicos ocorre de forma inversa. Por outro lado, com o efeito da temperatura observa-se uma redução da razão de inchamento quando a temperatura varia numa gama dos 20 a 40 °C. Quando submetidos a ambos os estímulos respondem de forma independente. Estes hidrogéis são estimulados por diversas variações do meio envolvente tornam-se potencialmente úteis em aplicações biomédicas.

Os testes de adsorção de fármacos foram realizados com diferentes hidrogéis e diferentes fármacos. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da combinação hidrogel/fármaco nos perfis de adsorção dos fármacos estudados. Os resultados obtidos com diferentes hidrogéis (IPNs e CPNs) apresentaram em alguns casos discrepâncias assinaláveis. Estas diferenças são em parte explicadas pela existência de interações preferenciais (positivas ou negativas) entre o hidrogel e os fármacos. É de salientar que as redes poliméricas interpenetrantes mostram-se mais eficientes relativamente aos casos particulares (redes poliméricas convencionais). Numa fase mais avançada foi realizada uma modelação matemática dos dados experimentais aos modelos teóricos (isotérmicas) para quantificação de fármaco adsorvido pelos hidrogéis e verificar qual dos modelos se ajusta melhor aos dados experimentais. Os melhores ajustes obtidos correspondem à adsorção do fármaco 3-aminopiridina com o hidrogel IPN 6 e o CPN 2. Ambos têm na sua constituição ácido acrílico e como foi referido anteriormente, o ácido acrílico (AA) tem elevada afinidade com a molécula 3-APy, devido às interações existentes entre eles, nomeadamente os efeitos eletrostáticos. No entanto, as redes poliméricas interpenetrantes destacam-se em termos de perfil ideal, porque as forças existentes entre as moléculas poderão ser mais elevadas.

Foram testadas por SPE diferentes combinações entre IPNs e fármacos tendo sido medidas taxas de adsorção e de libertação considerando também diferentes condições para as soluções aquosas utilizadas (pH ácido/alcalino, temperatura de 20/40 °C). Foi desta forma identificada uma elevada afinidade entre 3-APy e a maioria dos IPNs,

nomeadamente aqueles contendo AA (foram medidas taxas de retenção que podem chegar em alguns casos a cerca de 90%). Taxas de adsorção residuais foram observadas com INH e CAF, tendo sido medidas taxas de retenção relativamente baixas (comparativamente a 3-APy) para 5-FU, ADR e IBU. Deve no entanto ser mencionado que taxas razoáveis de retenção de IBU (podendo chegar a cerca de 60%) podem ser obtidas quando considerados IPNs contendo DMAEMA. Estes resultados demonstram a importância da estrutura química das redes na afinidade com os fármacos: a boa afinidade de redes AA com 3-APy justifica-se pela interação iónica negativa (AA)/positiva (3-APy) e boa afinidade de redes DMAEMA com IBU positiva (DMAEMA)/negativa (IBU). Adicionalmente, foi demonstrado experimentalmente que o pH e a temperatura podem potenciar o processo de adsorção. Por exemplo, a taxa de retenção de 3-APy em IPNs contendo AA é baixa a pH fortemente ácido (na ordem de 10% com pH=1,7) e aumenta substancialmente com pH alcalino (na ordem de 50% com pH=10). Inversamente com o IPN 10 (NIPA/DMAEMA) mostrou-se que é mantida uma taxa de adsorção razoável de 3-APy (cerca de 40%) a pH ácido (pH=1,7). Relações semelhantes foram observadas como nos processos de libertação, embora se deva mencionar que na grande maioria dos casos foi impossível a libertação total dos fármacos usando as mesmas soluções aquosas consideradas no processo de adsorção. Para esse efeito seria necessário utilizar solventes suficientemente fortes para quebrar as interações entre as redes e os fármacos.

A técnica de análise frontal foi utilizada para estudar a adsorção/libertação de diferentes fármacos (5-FU, CAF, THY, UR) em hidrogéis convencionais (CPN 2, CPN 3, CPN 4) e em IPNs. Neste último caso foram apenas consideradas combinações de IPN 6 com 3-APy e 5-FU dado que não foi possível operar o GPC com os restantes IPN devido ao excesso de pressão gerado no sistema. Estes testes foram realizados com diferentes valores de pH (pH=7/pH=10) e de temperatura (T=25 °C/T=40 °C). Os testes com hidrogéis convencionais voltaram a mostrar a importância da combinação adequada da estrutura química da rede com o fármaco considerado. Por exemplo, a adsorção de 5-FU ou CAF é muito maior nos hidrogéis CPN 2 (NIPA/MAA) e CPN3 (AA) comparativamente à sua retenção em CPN 4 (DMAEMA). Adicionalmente, os testes com o IPN 6 mostram a afinidade e estimulação das redes na presença dos fármacos específicos. Em concreto, foram observados aumentos significativos de pressão nas colunas durante a operação devido ao inchamento dos materiais na presença de moléculas particulares (fármacos). Foram medidas taxas de adsorção de 3-APy

superiores ao observado com 5-FU, o que confirma a boa afinidade do IPN com moléculas de carácter alcalino. Adicionalmente, os resultados mostraram a potenciação da adsorção de 3-APy a pH=7 e T=40 °C o que ilustra a possibilidade de estimular as redes através da variação combinada de parâmetros da sua envolvência. Este é um resultado relevante desta investigação, mostrando que é possível considerar IPNs como materiais úteis em aplicações biomédicas.

Apesar de todos os desenvolvimentos obtidos nas últimas décadas, há ainda um campo importante de progresso a considerar no desenvolvimento de polímeros para aplicações biomédicas, nomeadamente visando o aperfeiçoamento da imitação que os polímeros sintéticos são capazes de fazer das funções de macromoléculas biológicas. A técnica de impressão molecular é uma ferramenta importante neste contexto e pode até ser vista como geradora da imitação das funções dos anticorpos. Uma forma possível de aperfeiçoar estes tipos de materiais avançados passa pela combinação da afinidade/seletividade dos polímeros impressos molecularmente (MIP) com a capacidade de responder a estímulos dos hidrogéis inteligentes (não esquecendo a sua potencial biocompatibilidade). No entanto, há dificuldades importantes na obtenção de materiais que potenciem em simultâneo as duas características (afinidade/seletividade e resposta a estímulos) porque há efeitos que concorrem de forma oposta no seu processo de síntese. A quantidade de reticulante a considerar na formação das redes de polímero talvez seja o parâmetro que contribui de forma mais decisiva para esta inconsistência de projeto: classicamente é elevada no fabrico de MIPs (superior a 50%) para garantir estabilidade das cavidades estereoespecíficas e muito baixa na síntese de hidrogéis (inferior a 1%) de modo a permitir a elasticidade das redes. A síntese de redes combinando o processo de impressão e interpenetração (MIP-IPN) tem sido considerado nos anos mais recentes para gerar produtos com propriedades mecânicas e biocompatibilidade melhoradas [68]. A investigação que aqui foi apresentada poderá ser útil em novos trabalhos que procurem explorar a combinação entre impressão molecular e a interpenetração de redes de polímero.

Fica ainda a proposta de aprimorar os estudos realizados ao longo deste trabalho, sugerindo-se o seguinte,

- Síntese de hidrogéis IPNs recorrendo à polimerização RAFT, por forma avaliar o desempenho destes hidrogéis relativamente aos sintetizados neste trabalho.
- Síntese e caracterização de redes combinando o processo de impressão molecular e interpenetração (MIP-IPN).

- Avaliação do efeito da interpenetração de redes de polímero no aperfeiçoamento do reconhecimento molecular e libertação estimulada de fármacos.
- Avaliação do desempenho de micro/nano partículas de hidrogéis inteligentes impressos molecularmente na adsorção/dessorção estimulada de fármacos.
- Incorporação de polímeros naturais com polímeros sintéticos pelo processo de interpenetração para aumentar a biocompatibilidade mantendo a estimulação combinada.



## Capítulo 8 - Referências Bibliográficas

- [1] Galaev, I. e Mattiasson, B., "*Smart Polymers: Applications in Biotechnology and Biomedicine.*" 2 ed., 2007: CRC Press. 496.
- [2] Pescosolido, L., "*Interpenetrating Polymer Network Hydrogels based on Polysaccharides for Biomedical Applications.*" PhD thesis, 2011, Universiteit Utrecht, Netherlands.
- [3] Bajpai, A., Shukla, S., Saini, R. e Tiwari, A., "*Stimuli Responsive Drug Delivery Systems: From Introduction to Application.*" 1 ed., 2010: Smithers Rapra Technology.
- [4] Liu, C., Gan, X. e Chen, Y., *A novel pH-sensitive hydrogels for potential colon-specific drug delivery: Characterization and in vitro release studies.* Starch-Biosynthesis, Nutrition, Biomedical, 2011. **63**: p. 503-511.
- [5] Moura, M.R., "*Caracterização de matriz polimérica de hidrogel termosensível sintetizada a partir de alginato-Ca<sup>2+</sup> e poli(N isopropilacrilamida), do tipo IPN e semi-IPN* ", Dissertação de Mestrado, 2005, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- [6] Gonçalves, M., Pinto, V., Dias, R. e Costa, M., *Polymer reaction engineering studies on smart hydrogels formation.* Journal of Nanostructured Polymers and Nanocomposites, 2013. **9**(2): p. 40-45.
- [7] Costa, R.A.S., "*Síntese e Teste de Hidrogéis Inteligentes para a Libertação Controlada de Fármacos.*" Dissertação de Mestrado, 2013, Escola Superior de Tecnologia e Gestão Instituto Politécnico de Bragança, Bragança.
- [8] Mendes, J.S.M.P., "*Síntese de hidrogéis de base acrílica recorrendo a técnicas de polimerização radicalar viva. Potencial aplicação como fármacos poliméricos.*" Dissertação de Mestrado, 2011, Universidade de Coimbra, Coimbra.
- [9] Coimbra, P.M.A., "*Preparação e Caracterização de Sistemas de Libertação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural.*" Dissertação de Doutoramento, 2010, Universidade de Coimbra, Coimbra.
- [10] Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J. e Lemons, J.E., "*Biomaterials Science: An introduction to materials in medicine.*" 1996, San Diego: Academic Press. 484
- [11] Wong, V. *Hydrogels water-absorbing polymers.* Disponível em: [http://www.catalyststudent.org.uk/dl/bcf2d116614aa8dfdfef9a6c67e9ff2738af71a1/140-catalyst\\_18\\_1\\_335.pdf](http://www.catalyststudent.org.uk/dl/bcf2d116614aa8dfdfef9a6c67e9ff2738af71a1/140-catalyst_18_1_335.pdf). (consultado em: 25 de outubro de 2014).
- [12] Muniz, E.C. e Geuskens, G., *Compressive Elastic Modulus of Polyacrylamide Hydrogels and Semi-IPNs with Poly(N-isopropylacrylamide).* Macromolecules, 2001. **34**: p. 4480-4484.

- [13] Lohani, A., Singh, G., Bhattacharya, S.S. e Verma, A., *Interpenetrating Polymer Networks as Innovative Drug Delivery Systems* Drug Delivery, 2014: p. 1-11.
- [14] Sperling, L.H. e HU, R., *Interpenetrating Polymer Networks*, em *Polymer Blends Handbook*, L.A. Utracki, Editor. 2003: Dordrecht, The Netherlands. p. 417-447.
- [15] Stanciu, L.I.A., *Advanced Polymers: Interpenetrating Networks*, em *Handbook Polymer Blends and Composites*, C. VasileeA.K. Kulshreshtha, Editors. 2003: Rapra Technology. p. 275-280.
- [16] Kulkarni, A.R., Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M. e Rudzinski, W.E., *In-vitro release kinetics of cefadroxil-loaded sodium alginate interpenetrating network beads* European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2000. **51**: p. 127-133.
- [17] Ekici, S. e Saraydin, D., *Interpenetrating polymeric network hydrogels for potential gastrointestinal drug release* Polymer International, 2007. **56**: p. 1371-1377.
- [18] Ortega, A., Bucio, E. e Burillo, G., *New Interpenetrating Polymer Networks of N-isopropylacrylamide/ N-acryloxysuccinimide: Synthesis and Characterization* Polymer Bulletin, 2008. **60**: p. 515–524.
- [19] Singh, P., Kumar, S.K.S., T.S.Keerthi, Mani, T.T. e Getyala, A., *Interpenetrating Polymer Network (IPN) Micro particles an Advancement in Novel Drug Delivery System: A Review* International Journal of Pharmaceutical Sciences, 2012. **3**(3): p. 1826-1837
- [20] Margaret, T.M., Brahmaiah, B., Krishina, P.V., Revathi, B. e Nama, S., *Interpenetrating Polymer Network (IPN) Advancement in Novel Drug Delivery System: A Review* International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science, 2013. **2**(3): p. 215-224.
- [21] Dragan, E.S., *Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review.* Chemical Engineering Journal, 2014. **243**: p. 572–590.
- [22] Banerjee, S., Ray, S., Maiti, S., Sen, K.K., Bhattacharyya, U.K., Kaity, S. e Ghosh, A., *Interpenetrating Polymer Network (IPN): A Novel Biomaterial.* International Journal of Applied Pharmaceutics, 2010. **2**(1): p. 28-34.
- [23] Patel, J.M., Savani, H.D., Turakhiya, J.M., Akbari, B.V., Goyani, M. e Raj, H.A., *Interpenetrating Polymer Network (IPN): A Novel Approach for Controlled Drug Delivery* Universal Journal of Pharmacy, 2012. **1**(1): p. 1-11.
- [24] Jain, N., Sharma, P.K., Banik, A., Gupta, A. e Bhardwaj, V., *Pharmaceutical and Biomedical Applications of Interpenetrating Polymer Network* Current Drug Therapy, 2011. **6**: p. 263-270.
- [25] Hoffman, A.S., *Hydrogels for biomedical applications.* Advanced Drug Delivery Reviews, 2012. **64**: p. 18–23.

- [26] Mohan, N. e Nair, P.D., *Polyvinyl Alcohol-Poly(caprolactone) Semi IPN Scaffold With Implication for Cartilage Tissue Engineering*. Journal of Biomedical Materials Research Part B, 2007: p. 584-594.
- [27] Liu, Y. e Chan-Park, M.B., *Hydrogel based on interpenetrating polymer networks of dextran and gelatin for vascular tissue engineering*. Biomaterials, 2009. **30**: p. 196-207.
- [28] Shivashankar, M. e Mandal, B.K., *A Review on Interpenetrating Polymer Network*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2012. **4**(5): p. 1-7.
- [29] Ho, J.E., Barber, T.A., Viridi, A.S., Sumner, D.R. e Healy, K.E., *The effect of enzymatically degradable IPN coatings on peri-implant bone formation and implant fixation*. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2007. **81A**(3): p. 720–727.
- [30] Liu, W., Deng, C., McLaughlin, C.R., Lagali, N.S. e Kato, Y., *Collagen–phosphorylcholine interpenetrating network hydrogels as corneal substitutes*. Biomaterials, 2009. **30**: p. 1551–1559.
- [31] Bhardwaj, V., Harit, G. e Kumar, S., *Interpenetrating Polymer Network (IPN): Novel Approach in Drug Delivery* International Journal of Drug Development & Research, 2012. **4**(3): p. 41-54.
- [32] Mark, H.B., "The Merck Manual - Home Edition " Oceano Grupo Editorial, S.A. ed., 2009, Whitehouse Station, New Jersey, USA.
- [33] Fiszer, M., Kolacinski, Z., Rehcinski, T. e Przegł, L., *The application of 4-aminopyridine in calcium channel inhibitors acute poisoning*. 2007. **64**: p. 4-5.
- [34] Ahonen, K.V., Lahtinen, M.K., Löfman, M.S., Kiesilä, A.M., Valkonen, A.M., Sievänen, E.I., Nonappa, e Kolehmainen, E.T., *Structural studies of five novel bile acid-4-aminopyridine conjugates*. Steroids, 2012. **77**: p. 1141–1151.
- [35] Jensen, H.B., Ravnborg, M., Dalgas, U. e Stenager, E., *4-Aminopyridine for symptomatic treatment of multiple sclerosis: a systematic review*. Therapeutic Advances in Neurological Disorders, 2014. **7**(2): p. 97–113.
- [36] Sigma - Aldrich. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/portugal.html>. (consultado em: 9 de setembro de 2014).
- [37] Karale, R.S., Manu, B. e Shrihari, S., *Fenton and Photo-Fenton Oxidation Processes for Degradation of 3-Aminopyridine from Water*. APCBEE Procedia, 2014. **9**: p. 25 – 29.
- [38] Silva, V.R., Santos, L.R., Costa, M.P., Abreu, B.R.R., Dihl, R.R. e Lehmann, M., *Estudo do potencial mutagênico do 5-Fluoracil e do seu metabólito FdUMP através do teste SMART em Drosophila melanogaster.*, em *Salão UFRGS 2013: SIC - XXV Salão de Iniciação Científica da UFRGS 2013*: Porto Alegre - RS.

- [39] Ashwanikumar, N., Kumar, N.A., Nair, S.A. e Kumar, G.S.V., *Dual drug delivery of 5-fluorouracil (5-FU) and methotrexate (MTX) through random copolymeric nanomicelles of PLGA and polyethylenimine demonstrating enhanced cell uptake and cytotoxicity*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014: p. 1-9.
- [40] Soares, A.I.S.M. e Fonseca, B.M.R. *Cafeína*. Faculdade de Farmácia Universidade do Porto Disponível em: <http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0405/Cafeina/cafeina.pdf>. (consultado em: 21 de setembro de 2014).
- [41] Flory, P.J., "*Principles of Polymer Chemistry*." 1 ed., 1953, Ithaca, New York: Cornell University Press.
- [42] Costa, M.R.P.F.N. e Dias, R.C.S., *An improved general kinetic analysis of non-linear irreversible polymerisations*. *Chemical Engineering Science*, 2005. **60**(2): p. 423-446.
- [43] Hanif, M., Ranjha, N.M., Shoaib, M.H., Mudasser, J., Yousuf, R.I., Khan, A. e Zia-Ul-Haq, M., *Preparation, characterization and release of verapamil hydrochloride from polycaprolactone/acrylic acid (PCL/AA) hydrogels*. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 2011. **24**(4): p. 503-511.
- [44] Zhang, J.-T., Huang, S.-W., Cheng, S.-X. e Zhuo, R.-X., *Preparation and Properties of Poly(N-isopropylacrylamide)/Poly(N-isopropylacrylamide) Interpenetrating Polymer Networks for Drug Delivery*. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 2004. **42**: p. 1249 –1254.
- [45] Satish, C.S. e Shivakumar, H.G., *Dynamic Swelling and In Vitro Release of Insulin from Semi interpenetrating Polymer Networks of Poly(vinyl alcohol) and Poly(methacrylic acid)*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2007. **69**(1): p. 58-63.
- [46] Vaghani, S.S. e Patel, M.M., *pH-sensitive hydrogels based on semi-interpenetrating network (semi-IPN) of chitosan and polyvinyl pyrrolidone for clarithromycin release*. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2011. **37**(10): p. 1160–1169.
- [47] Liu, C., Chen, Y. e Chen, J., *Synthesis and characteristics of pH-sensitive semi-interpenetrating polymer network hydrogels based on konjac glucomannan and poly(aspartic acid) for in vitro drug delivery*. *Carbohydrate Polymers*, 2010. **79**: p. 500–506.
- [48] Hosseinzadeh, H., *Synthesis of A Novel Interpenetrating Polymer Network Hydrogel as Drug Delivery System*. *Advances in Environmental Biology*, 2012. **6**(3): p. 1079-1081.
- [49] Zhang, J. e Peppas, N.A., *Synthesis and Characterization of pH- and Temperature-Sensitive Poly(methacrylic acid)/Poly(N-isopropylacrylamide) Interpenetrating Polymeric Networks*. *Macromolecules*, 2000. **33**(1): p. 102-107.

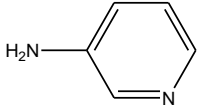
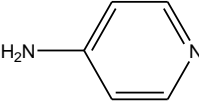
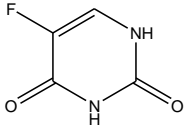
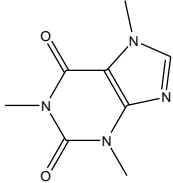
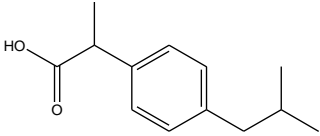
- [50] Gonçalves, M., Pinto, V., Costa, R., Dias, R., Hernandez-Ortiz, J. e Costa, M., *Stimuli-responsive hydrogels synthesis using free radical and RAFT polymerization*. Macromolecular Symposia, 2013. **333**: p. 41-54.
- [51] Arndt, K.F., Richter, A., Ludwig, S., Zimmermann, J., Kressler, J., Kuckling, D. e Adler, H.J., *Poly(vinyl alcohol)/poly(acrylic acid) hydrogels: FT-IR spectroscopic characterization of crosslinking reaction and work at transition point*. Acta Polym., 1999. **50**: p. 383-390.
- [52] Colthup, N.B., Daly, L.H. e Wiberley, S.E., "Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy". Third ed., 1990, Boston.
- [53] Oliveira, A.M., "Obtenção de nanopartículas sensíveis a temperatura e pH a partir de copolímeros em bloco constituídos de poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) e poli(N-isopropilacrilamida-co-ácido acrílico) sintetizado via RAFT visando aplicação em encapsulação e liberação controlada de ativos." Tese de Doutorado, 2008, Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- [54] Dias, R., *Determinação de isotérmicas de adsorção de fármacos em hidrogéis considerando operação batch (sistema fechado) e Testes de adsorção e dessorção de fármacos em modo contínuo*, 2014: Instituto Politécnico de Bragança.
- [55] Ruthven, D.M., "Principles of Adsorption and Adsorption Processes." J. Wiley. 1984, New York.
- [56] Foo, K.Y. e Hameed, B.H., *Insights into the modeling of adsorption isotherm systems*. Chemical Engineering Journal, 2010. **156**(1): p. 2-10.
- [57] Baggiani, C., Giraudi, G., Giovannoli, C., Tozzi, C. e Anfossi, L., *Adsorption isotherms of a molecular imprinted polymer prepared in the presence of a polymerisable template: Indirect evidence of the formation of template clusters in the binding site*. Analytica Chimica Acta, 2004. **504**(1): p. 43-52.
- [58] Umpleby, R.J., Baxter, S.C., Chen, Y., Shah, R.N. e Shimizu, K.D., *Characterization of Molecularly Imprinted Polymers with the Langmuir–Freundlich Isotherm*. Analytical Chemistry, 2001. **73**(19): p. 4584-4591.
- [59] Anirudhan, T.S. e Tharun, A.R., *Preparation and adsorption properties of a novel interpenetrating polymer network (IPN) containing carboxyl groups for basic dye from aqueous media*. Chemical Engineering Journal, 2012: p. 761–769.
- [60] Čurković, L., Rastovčan-Mioč, A., Majić, M. e Župan, J., *Application of Different Isotherm Models on Lead Ions Sorption Onto Electric Furnace Slag*. The Holistic Approach to Environment, 2011. **1**(1): p. 13-18
- [61] Venault, A., Ncibi, M.C., Pochat-Bohatier, C.I., Vachoud, L., Bouyer, D. e Faur, C., *On the adsorption mechanisms of diethylamine by medically-certified activated carbons: Investigation of critical parameters controlling sorption*

- properties*. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 2014. **45**: p. 1937–1946.
- [62] Gritti, F., Piatkowski, W. e Guiochon, G., *Comparison of the adsorption equilibrium of a few low-molecular mass compounds on a monolithic and a packed column in reversed-phase liquid chromatography*. Journal of Chromatography A, 2002. **978**: p. 81-107.
- [63] Sajonz, P., Zhong, G. e Guiochon, G., *Influence of the concentration dependence of the mass transfer properties on chromatographic band profiles II. Accuracy of the determination of isotherm data by frontal analysis* Journal of Chromatography A, 1996. **731**: p. 1-25.
- [64] Kim, H., Gritti, F. e Guiochon, G., *Effect of the temperature on the isotherm parameters of phenol in reversed-phase liquid chromatography*. Journal of Chromatography A, 2004. **1049**: p. 25-36.
- [65] Lanças, F., *Extração em Fase Sólida (SPE)*, em *Métodos Cromatográficos de Análise*, Rima, Editor. 2004: São Paulo. p. 96.
- [66] Oliveira, T., Reitor, P., Oliveira, D., Kadhivel, P., Dias, R.C.S. e Costa, M.R.P.F.N., *Development of Stimuli-Responsive Smart Hydrogels using Molecular Imprinting and Interpenetrating Polymer Networks*, em *12th International Chemical and Biological Engineering Conference 2014*: Porto, Portugal.
- [67] Machado, C., Oliveira, T., Reitor, P., Oliveira, D., Freitas, A., Kadhivel, P., Dias, R.C.S., e Costa, M.R.P.F.N., *Development of Tailored Hydrogels using RAFT Polymerization in Continuous Flow Microreactor*, em *8th ECNP International Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites 2014*: Dresden, Germany.
- [68] Wang, B., Liu, M., Liang, R., Ding, S., Chen, Z., Chen, S. e Jin, S., *MMTCA Recognition by Molecular Imprinting in Interpenetrating Polymer Network Hydrogels Based on Poly(acrylic acid) and Poly(vinyl alcohol)*. Macromolecular Bioscience, 2008. **8**(5): p. 417-425.

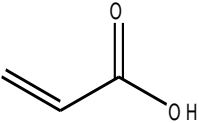
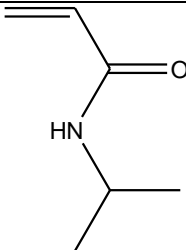
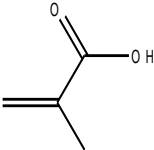
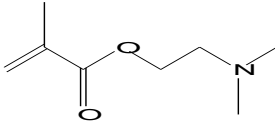
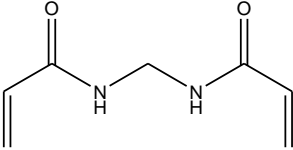
## **Anexos**



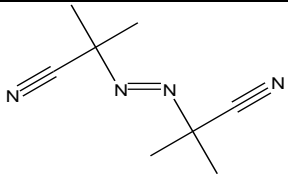
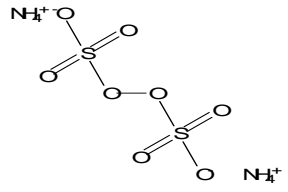
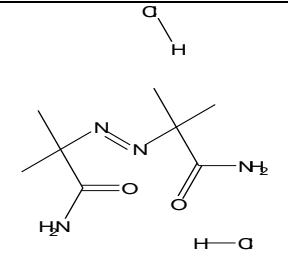
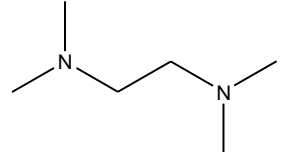
## Anexo 1 – Propriedades físico químicas dos fármacos utilizados neste trabalho.

Fármaco	Fórmula Química	Estrutura Química	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Massa Molecular (g/mol)	Densidade relativa	pKa/pKb
3-APy	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub>		248	60-63	94,11	---	---
4-APy	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub>		273	155-158	94,11	1,26	9,17
5-FU	C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		190-200	285-286	130,08	---	7,76
CAF	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>		178	234-236,5	194,19	1,23	10,4
IBU	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>		157	77-78	206,28	---	5,2

**Anexo 2** – Propriedades físico químicas dos monómeros e reticulantes utilizados neste trabalho.

Monómeros e Reticulantes	Fórmula Química	Estrutura Química	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Massa Molecular (g/mol)	Densidade relativa	pKa/pKb
AA	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>		138-139	14	72,06	1,05	4,35
NIPA	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO		89-92	60-63	113,16	---	---
MAA	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>		159-163	14-15	86,09	1,05	4,66
DMAEMA	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>		182-192	---	157,21	0,93	---
MBAm	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		---	>300	154,17	---	---

## Anexo 3 – Propriedades físico químicas dos iniciadores e catalisadores utilizados neste trabalho.

Catalisador e Iniciadores	Fórmula Química	Estrutura Química	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Massa Molecular (g/mol)	Densidade relativa
AIBN	$C_8H_{12}N_4$		---	102-104	164,21	1,11
APS	$H_8N_2O_8S_2$		---	---	228,20	1,980
V <sub>50</sub>	$C_8H_{20}Cl_2N_6$		---	175-177	271,19	0,42
TEMED	$C_6H_{16}N_2$		121,1	-58,6	116,20	0,775

**Anexo 4** – Resultados obtidos para a sensibilidade dos IPNs à variação da Temperatura e do pH.

<b>IPN</b>	<b>Massa de IPN (mg)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>pH</b>	<b>SR</b>
<b>IPN 1</b>	30,3	20	2,02	33,0
	30,4	40	2,02	3,83
	30,0	20	7,54	33,3
	30,1	40	7,54	3,95
	30,0	20	10,17	33,3
	30,0	40	10,17	4,02
<b>IPN 2</b>	30,5	20	2,02	5,04
	30,4	40	2,02	7,72
	29,9	20	7,54	19,74
	30,1	40	7,54	20,10
	29,9	20	10,17	11,89
	30,3	40	10,17	23,17
<b>IPN 3</b>	30,4	20	2,02	3,07
	30,4	40	2,02	5,18
	30,5	20	7,54	20,82
	30,1	40	7,54	27,59
	30,3	20	10,17	10,22
	29,9	40	10,17	17,52
<b>IPN 4</b>	30,1	20	2,02	9,12
	30,3	40	2,02	12,32
	30,0	20	7,54	33,33
	30,4	40	7,54	51,91
	29,9	20	10,17	33,44
	30,3	40	10,17	43,12
<b>IPN 5</b>	30,2	20	2,02	3,92
	30,3	40	2,02	7,50
	30,6	20	7,54	28,22
	30,3	40	7,54	39,03
	29,9	20	10,17	21,12
	30,7	40	10,17	28,18
<b>IPN 6</b>	30,5	20	2,02	3,26
	30,1	40	2,02	4,23
	30,5	20	7,54	6,96
	30,2	40	7,54	11,63
	30,3	20	10,17	9,09
	30,4	40	10,17	7,33

**Anexo 4**  
**(Continuação)**

<b>IPN</b>	<b>Massa de IPN (mg)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>pH</b>	<b>SR</b>
<b>IPN 7</b>	29,0	20	2,02	4,08
	30,4	40	2,02	4,31
	29,8	20	7,54	32,74
	30,3	40	7,54	25,13
	30,4	20	10,17	27,86
	29,0	40	10,17	27,77

**Anexo 5** – Resultados obtidos para a sensibilidade dos SIPNs à variação da Temperatura e do pH.

<b>SIPN</b>	<b>Massa de SIPN (mg)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>pH</b>	<b>SR</b>
<b>SIPN 1</b>	30,5	20	2,02	2,46
	30,2	40	2,02	3,72
	30,0	20	7,54	8,15
	30,2	40	7,54	10,66
	30,3	20	10,17	6,69
	30,8	40	10,17	13,03
<b>SIPN 2</b>	30,0	20	2,02	6,33
	30,0	40	2,02	7,96
	30,0	20	7,54	33,0
	30,4	40	7,54	42,21
	30,3	20	10,17	33,0
	30,0	40	10,17	31,07
<b>SIPN 3</b>	29,9	20	2,02	6,12
	30,0	40	2,02	5,49
	30,2	20	7,54	11,04
	30,2	40	7,54	36,82
	30,5	20	10,17	16,07
	30,1	40	10,17	18,19

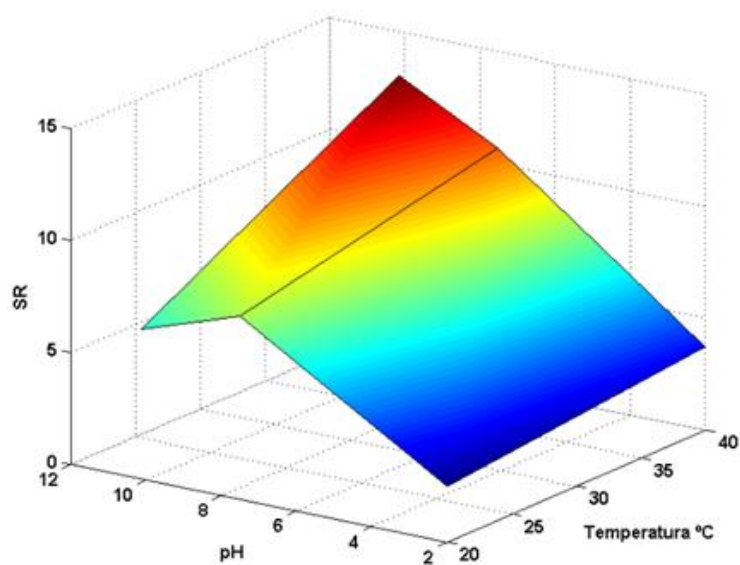
**Anexo 6** – Resultados obtidos para a sensibilidade das 1<sup>as</sup> redes poliméricas convencionais à variação da Temperatura e do pH.

<b>CPN</b>	<b>Massa de CPN (mg)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>pH</b>	<b>SR</b>
<b>AA1</b>	30,6	20	2,02	9,91
	30,3	40	2,02	17,78
	30,3	20	7,54	27,48
	30,4	40	7,54	37,80
	30,6	20	10,17	20,86
	29,9	40	10,17	36,77

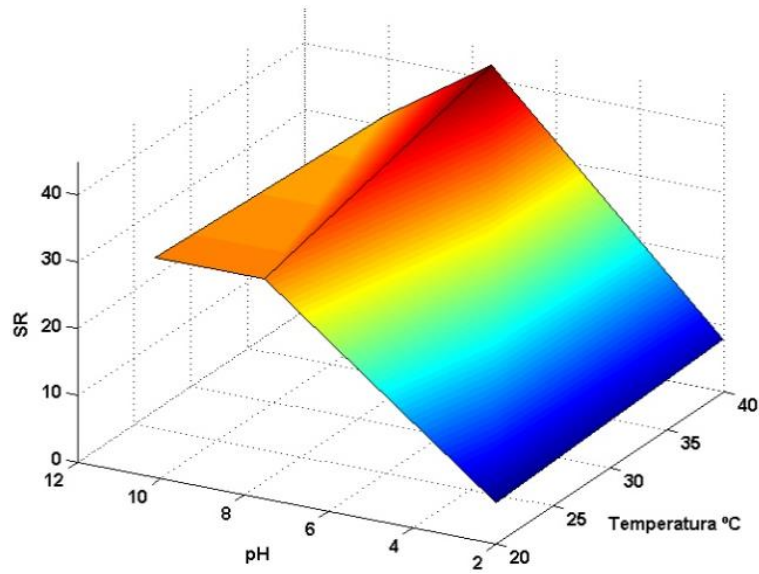
**Anexo 6**  
**(Continuação)**

CPN	Massa de CPN (mg)	Temperatura (°C)	pH	SR
AA2	30,0	20	2,02	3,29
	30,1	40	2,02	5,27
	30,4	20	7,54	5,81
	30,2	40	7,54	5,25
	30,4	20	10,17	4,33
	30,1	40	10,17	4,84
	NIPA	30,1	20	2,02
30,2		40	2,02	4,78
30,0		20	7,54	19,65
30,4		40	7,54	4,67
30,0		20	10,17	20,45
30,0		40	10,17	4,48

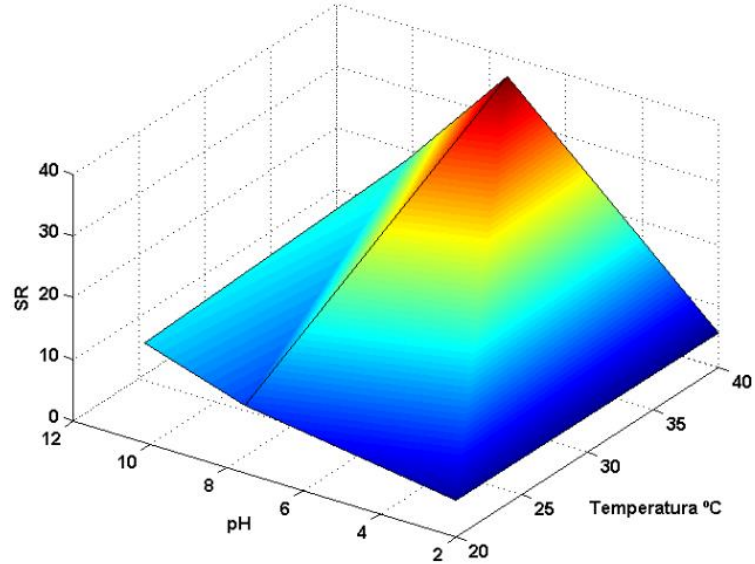
**Anexo 7** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica semi-interpenetrante (SIPN 1). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.



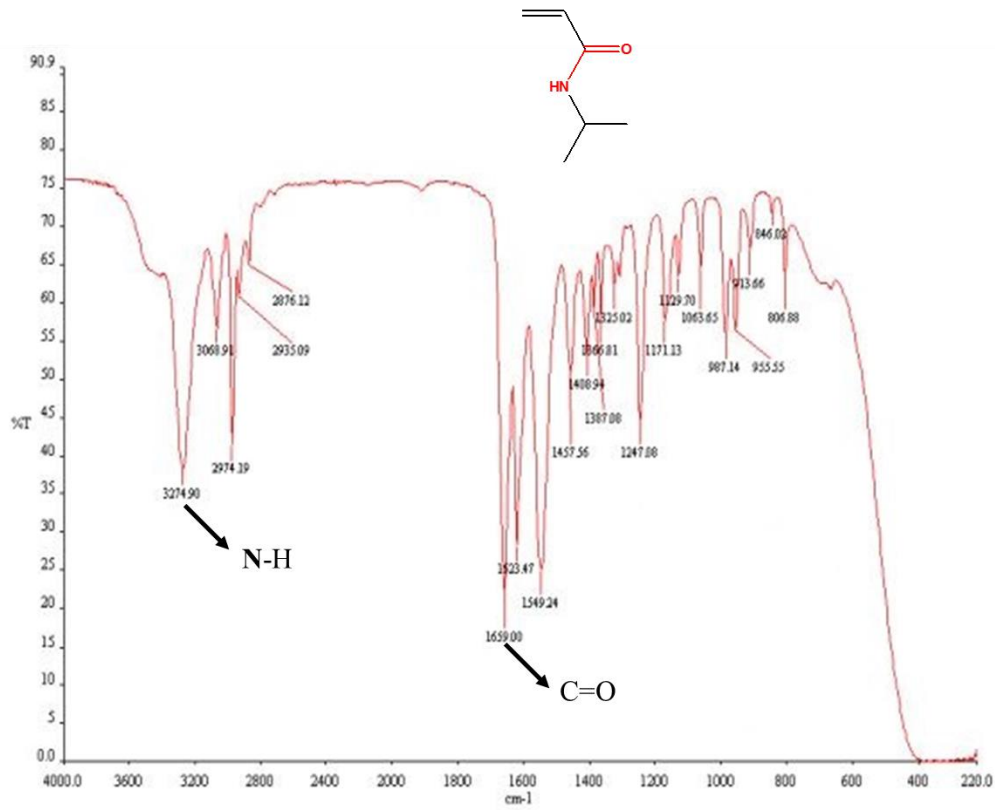
**Anexo 8** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica semi-interpenetrante (SIPN 2). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.



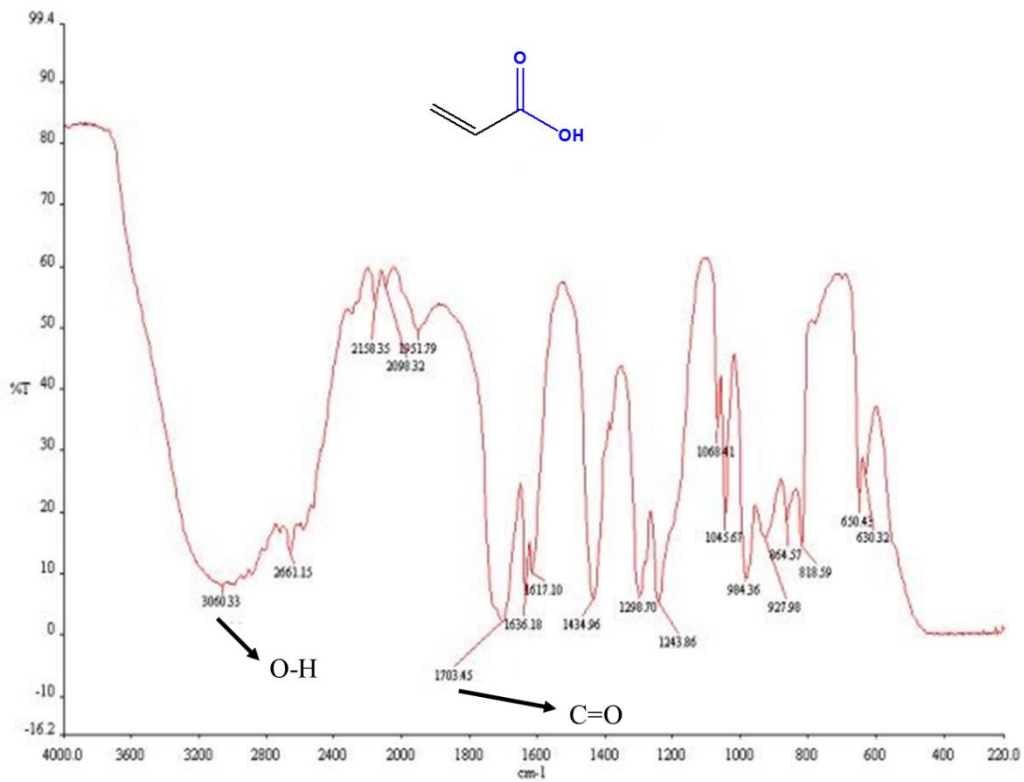
**Anexo 9** – Efeito do pH e da temperatura na razão de inchamento (SR) da rede polimérica semi-interpenetrante (SIPN 3). Foi estudada a gama de valores de pH entre 2 e 10 e a gama de temperaturas de 20 a 40 °C.



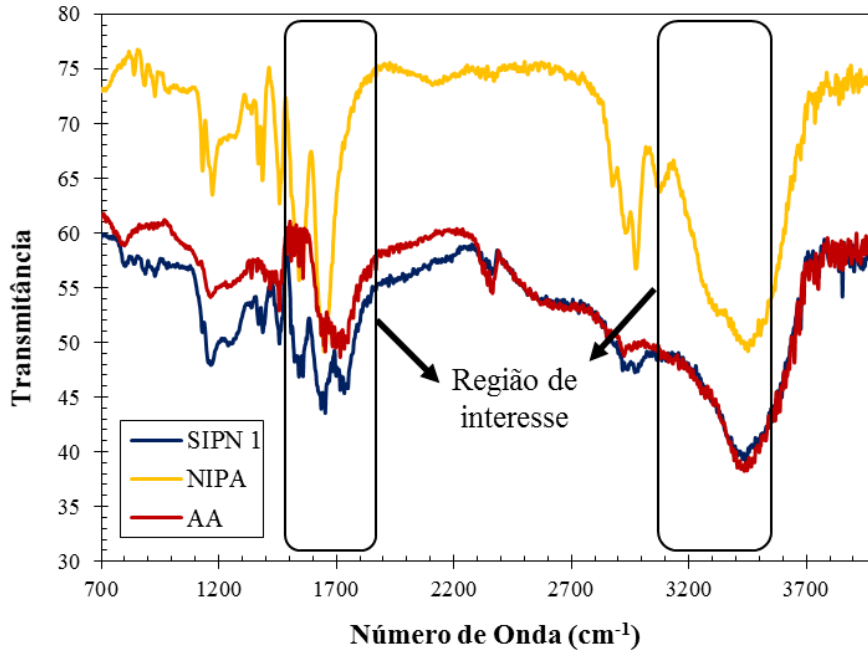
**Anexo 10** – Espectro de infravermelho (FTIR) do monómero NIPA (amostra pura) [53].



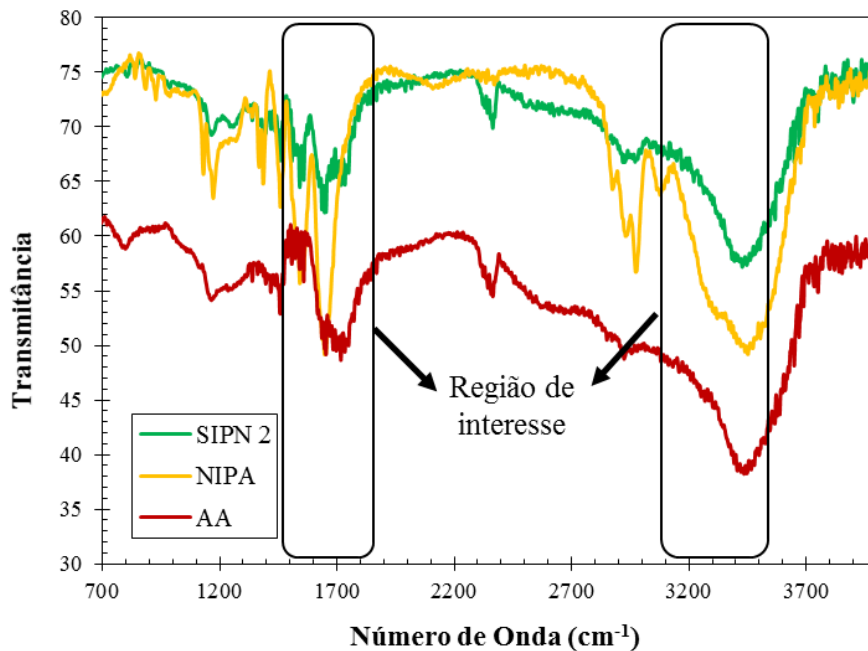
**Anexo 11** – Espectro de infravermelho (FTIR) do monómero AA (amostra pura) [53].



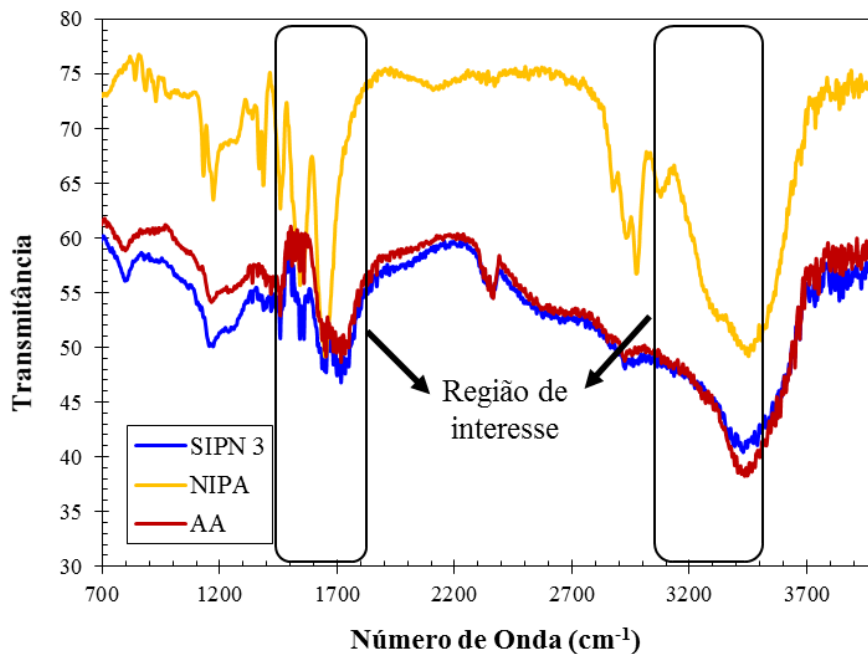
**Anexo 12** – Comparação do espectro FTIR do SIPN 1 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes na amostra. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença da água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ .



**Anexo 13** – Comparação do espectro FTIR do SIPN 2 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes na amostra. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença da água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ .



**Anexo 14** – Comparação do espectro FTIR do SIPN 3 (AA+NIPA) com a rede convencional (AA) e com a rede polimérica baseada em NIPA. As zonas assinaladas correspondem às regiões de absorção correspondentes aos grupos funcionais (amidas e ácido carboxílico) presentes na amostra. Note-se que a região 3400-2400  $\text{cm}^{-1}$  pode ser influenciada pela presença da água, sendo preferível usar como referência a região dos 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ .



**Anexo 15** – Quantidade de CPN 3 e concentrações de 3-APy de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 20 °C.

	<b>Hidrogel CPN 3 (mg)</b>	<b>20 mM de 3-APy (µL)</b>	<b>H<sub>2</sub>O (µL)</b>	<b>C<sub>0</sub> (mM)</b>	<b>C<sub>0</sub> (ppm)</b>	<b>V (mL)</b>
1	15,1	65	12935	0,02458119	2,31345867	13
2	15,0	130	12870	0,04916238	4,62691734	13
3	14,9	195	12805	0,07374357	6,94037601	13
4	14,9	260	12740	0,09832476	9,25383468	13
5	15,1	520	12480	0,19664952	18,5076694	13
6	14,9	780	12220	0,29497428	27,761504	13
7	15,1	1040	11960	0,39329904	37,0153387	13
8	15,1	1300	11700	0,49162379	46,2691734	13
9	15,0	1300	11700	1,00021557	94,1352882	13
10	15,0	3900	9100	3,00064671	282,405865	13
11	15,0	6500	6500	5,00107784	470,676441	13
12	15,0	9100	3900	7,00150898	658,947018	13
13	15,1	11700	1300	9,00194012	847,217594	13
14	15,0	13000	0	20,1865874	1899,86068	13
15	15,1	0	13000	0	0	13

**Anexo 16** – Quantidade de CPN 3 e concentrações de CAF de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 20 °C.

	<b>Hidrogel CPN 3 (mg)</b>	<b>10 mM de CAF (µL)</b>	<b>H<sub>2</sub>O (µL)</b>	<b>C<sub>0</sub> (mM)</b>	<b>C<sub>0</sub> (ppm)</b>	<b>V (mL)</b>
1	15,6	130	12870	0,09990216	19,4	13
2	15,0	325	12675	0,24975539	48,5	13
3	15,3	650	12350	0,49951079	97	13
4	15,0	1300	11700	0,99902158	194	13
5	15,2	2600	10400	1,99804315	388	13
6	15,0	5200	7800	3,99608631	776	13
7	15,0	10400	2600	7,99217261	1552	13
8	15,3	13000	0	9,99021577	1940	13
9	15,0	0	13000	0	0	13

**Anexo 17** – Quantidade de CPN 2 e concentrações de CAF de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 20 °C.

	<b>Hidrogel CPN 2 (mg)</b>	<b>10 mM de CAF (µL)</b>	<b>H<sub>2</sub>O (µL)</b>	<b>C<sub>0</sub> (mM)</b>	<b>C<sub>0</sub> (ppm)</b>	<b>V (mL)</b>
1	15,1	130	12870	0,09990216	19,4	13
2	15,2	325	12675	0,24975539	48,5	13
3	15,1	650	12350	0,49951079	97	13
4	15,3	1300	11700	0,99902158	194	13
5	15,2	2600	10400	1,99804315	388	13
6	15,0	5200	7800	3,99608631	776	13
7	15,2	10400	2600	7,99217261	1552	13
8	15,0	13000	0	9,99021577	1940	13
9	15,3	0	13000	0	0	13

**Anexo 18** – Quantidade de IPN 1 e concentrações de 4-APy de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 40 °C.

	<b>Hidrogel IPN 1 (mg)</b>	<b>5 mM de 4-APy (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>H<sub>2</sub>O (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>C<sub>0</sub> (mM)</b>	<b>C<sub>0</sub> (ppm)</b>	<b>V (mL)</b>
1	50,1	65	12935	0,025788	2,427037194	13
2	50,6	130	12870	0,051576	4,854074389	13
3	49,9	195	12805	0,077364	7,281111583	13
4	50,7	260	12740	0,103152	9,708148777	13
5	49,7	520	12480	0,206304	19,41629755	13
6	50,2	780	12220	0,3094559	29,12444633	13
7	50,6	1040	11960	0,4126079	38,83259511	13
8	50,7	1300	11700	0,5157599	48,54074389	13
9	49,9	0	13000	0	0	13

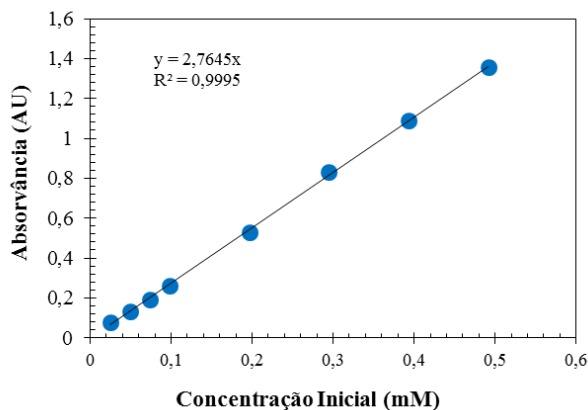
**Anexo 19** – Quantidade de IPN 6 e concentrações de 5-FU de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 25 °C.

	<b>Hidrogel IPN 6 (mg)</b>	<b>25 mM de 5-FU (µL)</b>	<b>H<sub>2</sub>O (µL)</b>	<b>C<sub>0</sub> (mM)</b>	<b>C<sub>0</sub> (ppm)</b>	<b>V (mL)</b>
1	15,1	13	12987	0,025125564	3,268333333	13
2	15,2	26	12974	0,050251128	6,536666667	13
3	15,1	39	12961	0,075376691	9,805	13
4	15,5	52	12948	0,100502255	13,07333333	13
5	15,5	104	12896	0,20100451	26,14666667	13
6	15,2	156	12844	0,301506765	39,22	13
7	15,3	208	12792	0,40200902	52,29333333	13
8	15,2	260	12740	0,502511275	65,36666667	13
9	15,2	520	12480	1,00502255	130,7333333	13
10	15,1	2600	10400	5,025112751	653,6666667	13
11	15,5	5200	7800	10,0502255	1307,333333	13
12	15,3	7800	5200	15,07533825	1961	13
13	15,4	10400	2600	20,100451	2614,666667	13
14	15,5	13000	0	25,12556376	3268,333333	13
15	15,1	0	13000	0	0	13

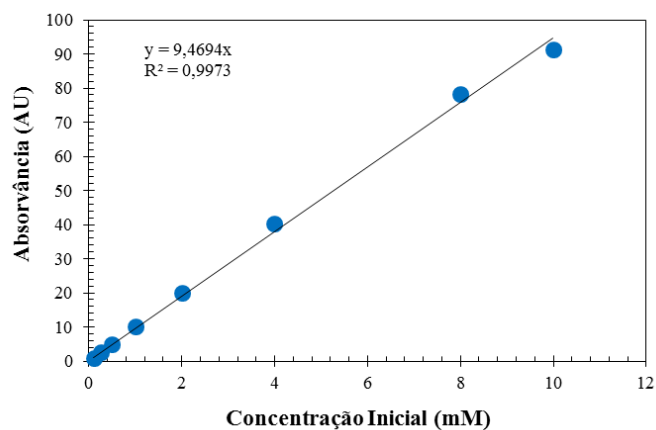
**Anexo 20** – Quantidade de IPN 6 e concentrações de 3-APy de cada solução utilizada nos testes de adsorção em modo fechado, a pH neutro e temperatura de 25 °C.

	<b>Hidrogel IPN6 (mg)</b>	<b>25 mM de 3-APy (µL)</b>	<b>H<sub>2</sub>O (µL)</b>	<b>C<sub>0</sub> (mM)</b>	<b>C<sub>0</sub> (ppm)</b>	<b>V (mL)</b>
1	15,2	13	12987	0,02496945	2,35	13
2	15,1	26	12974	0,0499389	4,7	13
3	15,0	39	12961	0,07490836	7,05	13
4	15,3	52	12948	0,09987781	9,4	13
5	15,1	104	12896	0,19978862	18,8	13
6	15,2	156	12844	0,29963343	28,2	13
7	15,3	208	12792	0,39951124	37,6	13
8	15,0	260	12740	0,49928905	47	13
9	15,3	520	12480	0,99877809	94	13
10	15,3	2600	10400	4,99389045	470	13
11	15,0	5200	7800	9,98778091	940	13
12	15,4	7800	5200	14,9816714	1410	13
13	15,0	10400	2600	19,9755618	1880	13
14	15,1	13000	0	24,9694523	2350	13
15	15,0	0	13000	0	0	13

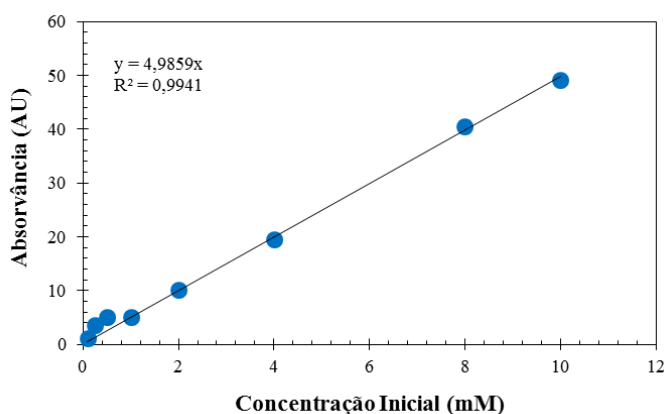
**Anexo 21** – Curvas de calibração da Absorvância vs. Concentração inicial dos testes realizados em modo fechado (*batch*) com as redes poliméricas convencionais.



a) Curva de calibração da Absorvância vs. Concentração do teste realizado em modo fechado com o hidrogel CPN 3 e fármaco 3-APy com  $\lambda=289$  nm.

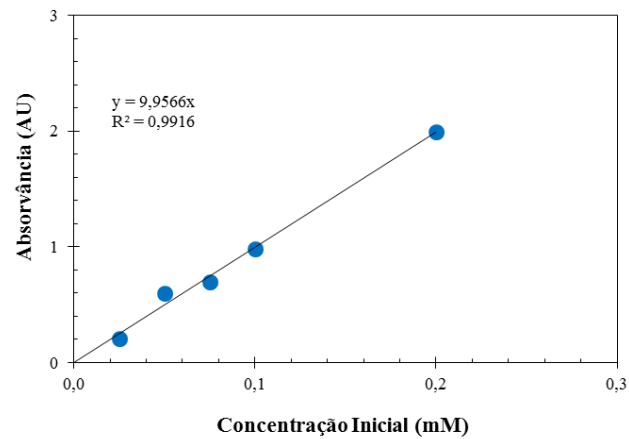


b) Curva de calibração da Absorvância vs. Concentração do teste realizado em modo fechado com o hidrogel CPN 3 e fármaco CAF com  $\lambda=273$  nm.

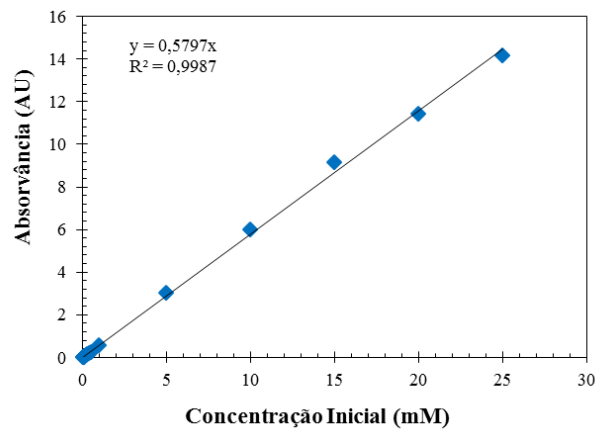


c) Curva de calibração da Absorvância vs. Concentração do teste realizado em modo fechado com o hidrogel CPN 2 e fármaco CAF com  $\lambda=273$  nm.

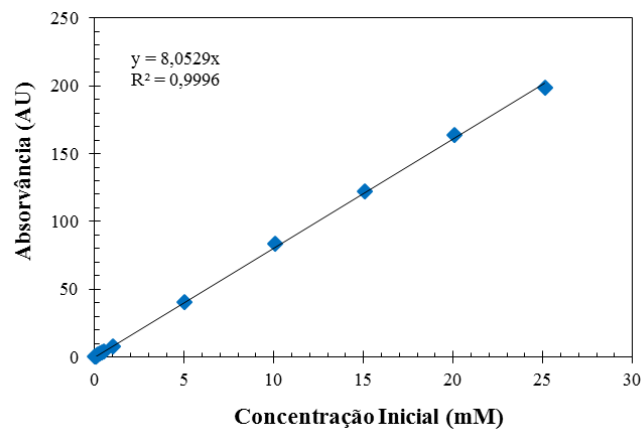
**Anexo 22** – Curvas de calibração da Absorvância vs. Concentração inicial dos testes realizados em modo fechado (*batch*) com as redes poliméricas interpenetrantes.



a) Curva de calibração da Absorvância vs. Concentração do teste realizado em modo fechado com o hidrogel IPN 1 e fármaco 4-APy com  $\lambda=252$  nm.



b) Curva de calibração da Absorvância vs. Concentração do teste realizado em modo fechado com o hidrogel IPN 6 e fármaco 3-APy com  $\lambda=289$  nm.



c) Curva de calibração da Absorvância vs. Concentração do teste realizado em modo fechado com o hidrogel IPN 6 e fármaco 5-FU com  $\lambda=265$  nm.

**Anexo 23** – Parâmetros das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas convencionais baseadas em AA (CPN 3). As unidades dos parâmetros das isotérmicas são definidas consoante as unidades de  $Q_e$  (mg/g) e  $C_e$  (mM).

Isotérmicas	Parâmetros das Isotérmicas	CPN 3	Estimativa do erro (resnorm)
Modelo de Langmuir	$Q_{máx}$	232,8026	274,8640
	$K_L$	0,0559	
Modelo de Freundlich	$K_F$	15,4825	352,4171
	$n$	1,4112	
Modelo de Sips	$Q_{máx}$	254.8824	273,3790
	$K_{LF}$	0,0532	
	$n$	1,0436	
Modelo de Redlich-Peterson	$K_{RP}$	15,1340	269,3784
	$A_{RP}$	0,1396	
	$g$	0,7785	
Modelo de BET	$Q_{máx}$	117,7617	265,3496
	$K_{BET}$	9,2287	
	$C_s$	73,0997	

**Anexo 24** – Parâmetros das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA (CPN 2). As unidades dos parâmetros das isotérmicas são definidas consoante as unidades de  $Q_e$  (mg/g) e  $C_e$  (mM).

Isotérmicas	Parâmetros das Isotérmicas	CPN 2	Estimativa do erro (resnorm)
Modelo de Langmuir	$Q_{máx}$	28,8075	4,2839
	$K_L$	0,0720	
Modelo de Freundlich	$K_F$	1,8584	4,9477
	$n$	1,1955	
Modelo de Sips	$Q_{máx}$	10,6649	0,6814
	$K_{LF}$	0,0866	
	$n$	0,3073	
Modelo de Redlich-Peterson	$K_{RP}$	2,0871	3,7591
	$A_{RP}$	0,0002	
	$g$	3,8719	
Modelo de BET	$Q_{máx}$	2,0964	13,8341
	$K_{BET}$	0,5993	
	$C_s$	2,7541	

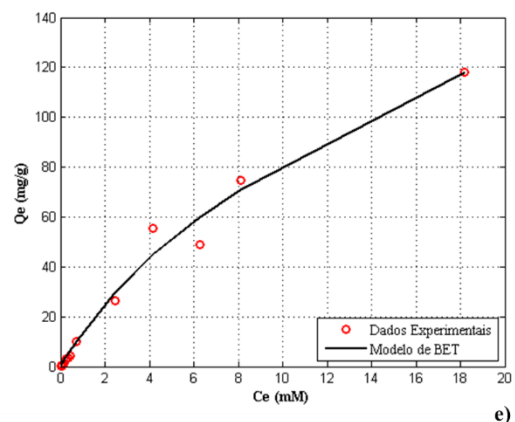
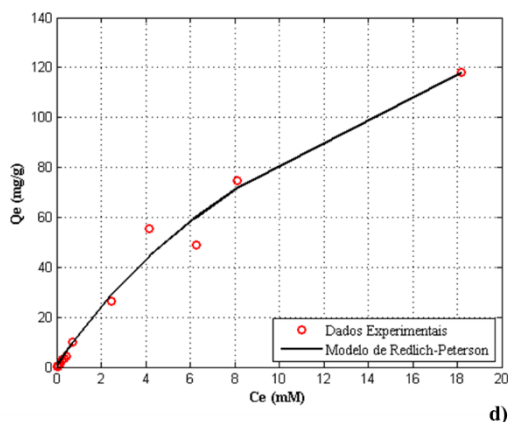
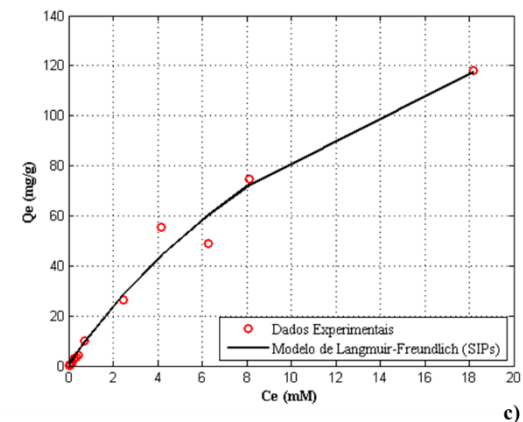
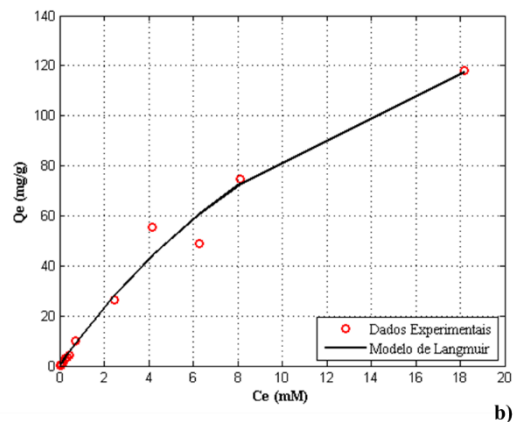
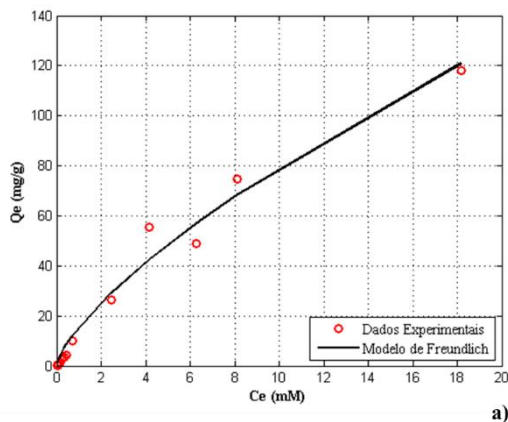
**Anexo 25** – Parâmetros das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 4-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA+NIPA (IPN 1). As unidades dos parâmetros das isotérmicas são definidas consoante as unidades de  $Q_e$  (mg/g) e  $C_e$  (mM).

Isotérmicas	Parâmetros das Isotérmicas	IPN 1	Estimativa do erro (resnorm)
Modelo de Langmuir	$Q_{máx}$	25,9443	38,2221
	$K_L$	3,7831	
Modelo de Freundlich	$K_F$	25,2542	35,9558
	$n$	1,8466	
Modelo de Sips	$Q_{máx}$	28,5470	37,6210
	$K_{LF}$	2,8855	
	$n$	0,8763	
Modelo de Redlich-Peterson	$K_{RP}$	75,7025	38,2855
	$A_{RP}$	3,6423	
	$g$	1,5165	
Modelo de BET	$Q_{máx}$	26,00	38,223
	$K_{BET}$	34613,00	
	$C_s$	9148,00	

**Anexo 26** – Parâmetros das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET a para adsorção de 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). As unidades dos parâmetros das isotérmicas são definidas consoante as unidades de  $Q_e$  (mg/g) e  $C_e$  (mM).

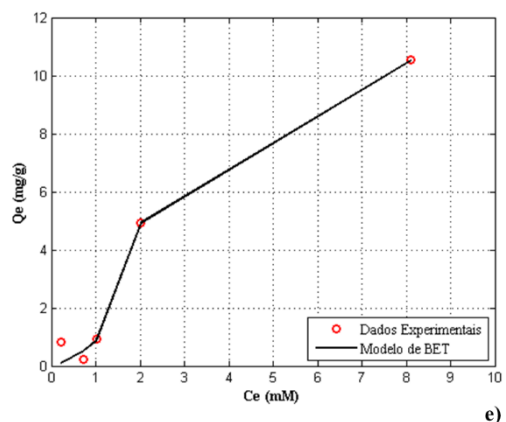
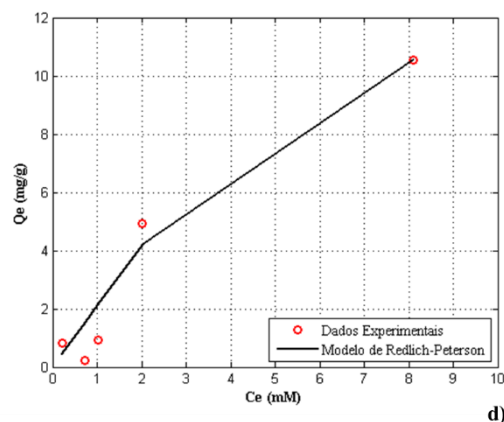
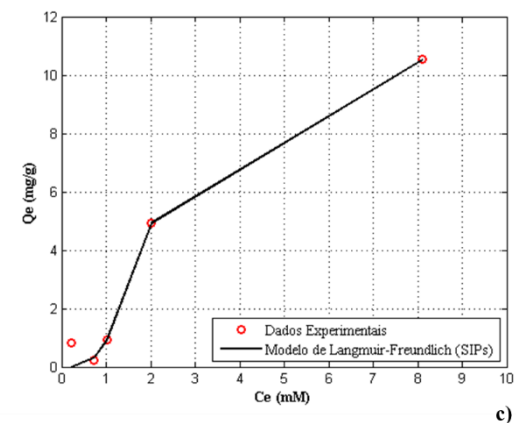
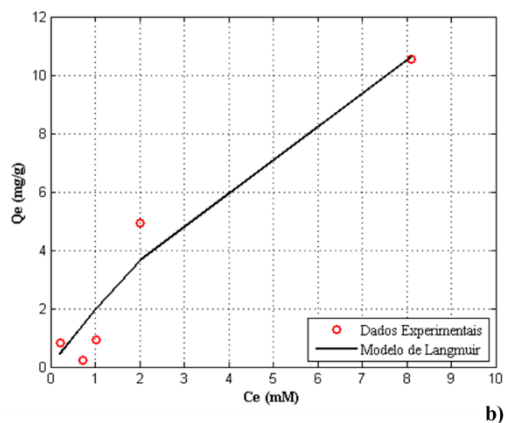
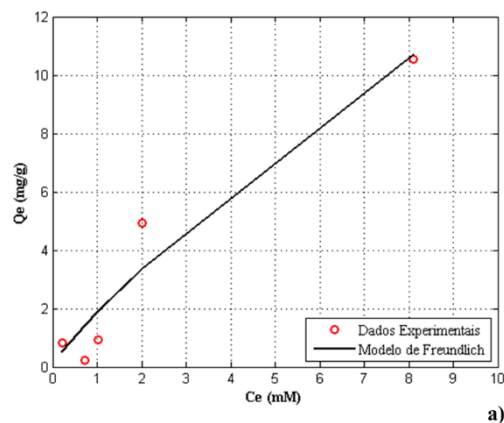
Isotérmicas	Parâmetros das Isotérmicas	IPN 6	Estimativa do erro (resnorm)
Modelo de Langmuir	$Q_{máx}$	323,9310	397,0401
	$K_L$	0,4632	
Modelo de Freundlich	$K_F$	88,6510	856,93
	$n$	2,3149	
Modelo de Sips	$Q_{máx}$	318,6114	379,0291
	$K_{LF}$	0,4698	
	$n$	0,9592	
Modelo de Redlich-Peterson	$K_{RP}$	138,5627	374,4773
	$A_{RP}$	0,3827	
	$g$	1,0368	
Modelo de BET	$Q_{máx}$	320,00	397,0721
	$K_{BET}$	1,9291	
	$C_s$	4,1644	

**Anexo 27** – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas convencionais baseadas em AA (CPN 3). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco.



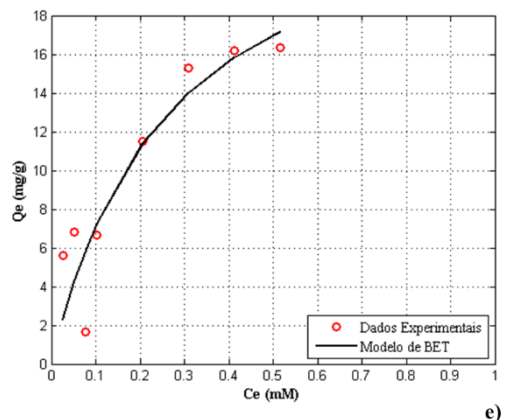
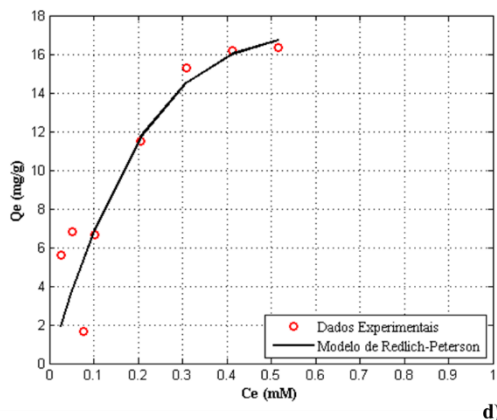
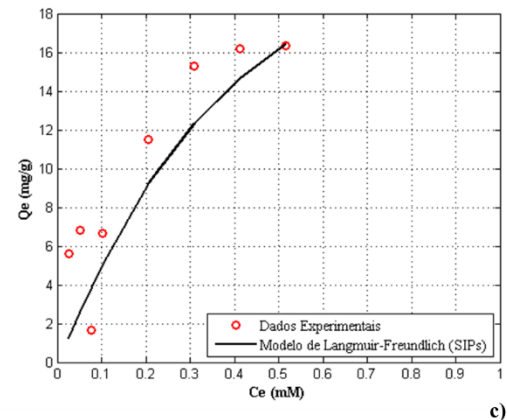
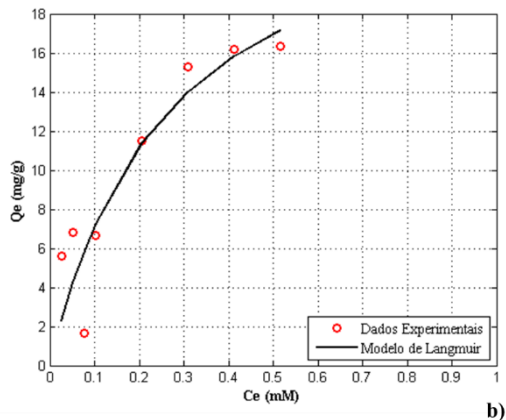
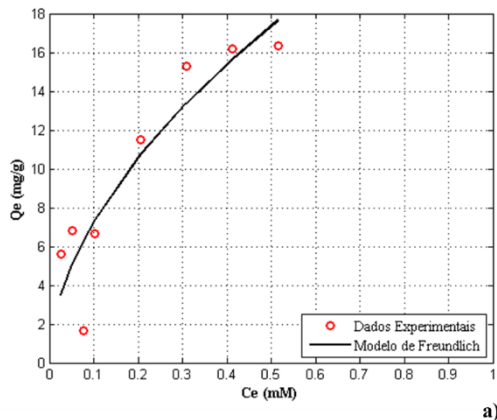
- a) Ajuste não linear da Isotérmica de Freundlich aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel CPN 3.
- b) Ajuste não linear da Isotérmica de Langmuir aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel CPN 3.
- c) Ajuste não linear da Isotérmica de Sips aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel CPN 3.
- d) Ajuste não linear da Isotérmica de RP aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel CPN 3.
- e) Ajuste não linear da Isotérmica de BET aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel CPN 3.

**Anexo 28** – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA (CPN 2). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 24 hr, pH neutro, temperatura de 20 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco.



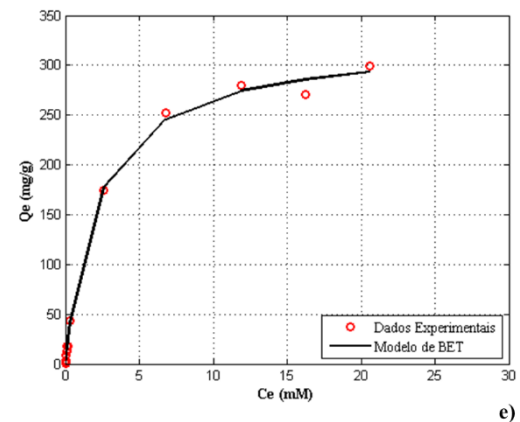
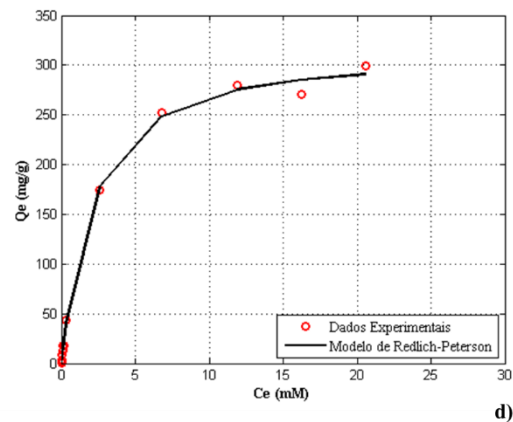
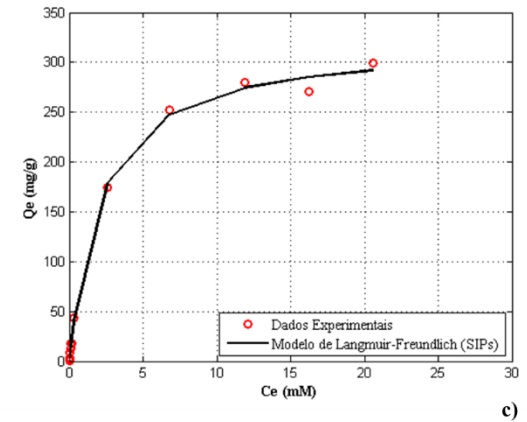
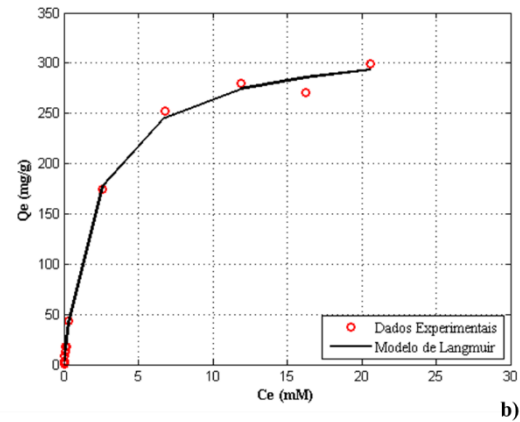
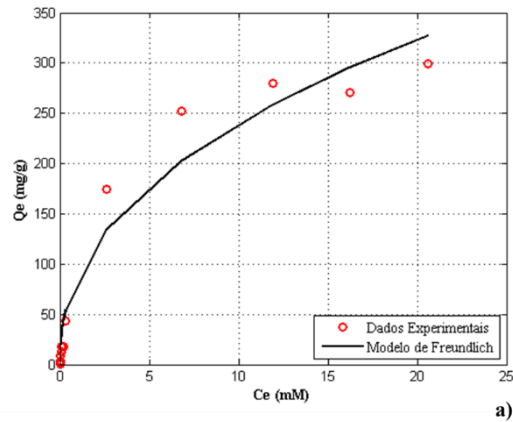
- a) Ajuste não linear da Isotérmica de Freundlich aos dados experimentais para a determinação da adsorção de CAF no hidrogel CPN 2.
- b) Ajuste não linear da Isotérmica de Langmuir aos dados experimentais para a determinação da adsorção de CAF no hidrogel CPN 2.
- c) Ajuste não linear da Isotérmica de Sips aos dados experimentais para a determinação da adsorção de CAF no hidrogel CPN 2.
- d) Ajuste não linear da Isotérmica de RP aos dados experimentais para a determinação da adsorção de CAF no hidrogel CPN 2.
- e) Ajuste não linear da Isotérmica de BET aos dados experimentais para a determinação da adsorção de CAF no hidrogel CPN 2.

**Anexo 29** – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 4-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA+NIPA (IPN 1). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 40 °C e cerca de 50 mg de massa de hidrogel seco.



- a) Ajuste não linear da Isotérmica de Freundlich aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 4-APy no hidrogel IPN 1.
- b) Ajuste não linear da Isotérmica de Langmuir aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 4-APy no hidrogel IPN 1.
- c) Ajuste não linear da Isotérmica de Sips aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 4-APy no hidrogel IPN 1.
- d) Ajuste não linear da Isotérmica de RP aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 4-APy no hidrogel IPN 1.
- e) Ajuste não linear da Isotérmica de BET aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 4-APy no hidrogel IPN 1.

**Anexo 30** – Modelos das isotérmicas não lineares de Freundlich, Langmuir, Sips, RP e BET para a adsorção de 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições do sistema *batch*: tempo de adsorção superior a 48 hr, pH neutro, temperatura de 25 °C e cerca de 15 mg de massa de hidrogel seco.



- a) Ajuste não linear da Isotérmica de Freundlich aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel IPN 6.
- b) Ajuste não linear da Isotérmica de Langmuir aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel IPN 6.
- c) Ajuste não linear da Isotérmica de Sips aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel IPN 6.
- d) Ajuste não linear da Isotérmica de RP aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel IPN 6.
- e) Ajuste não linear da Isotérmica de BET aos dados experimentais para a determinação da adsorção de 3-APy no hidrogel IPN 6.

**Anexo 31** – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (primeiro método). Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH neutro e concentração de fármaco de 2 mM.

Hidrogel	Massa de Hidrogel (mg)	Fármaco	Volume de solução (mL)
IPN 1	5,4	3-APy	10
IPN 2	5,1		10
IPN 3	5,6		15
IPN 4	5,8		10
IPN 5	5,2		15
IPN 6	5,3		10
IPN 7	5,7		25
IPN 1	5,0	5-FU	5
IPN 2	5,0		5
IPN 3	5,6		5
IPN 4	5,9		5
IPN 5	5,2		5
IPN 6	5,5		5
IPN 7	5,0		5
IPN 1	5,4	INH	5
IPN 2	5,5		5
IPN 3	5,3		5
IPN 4	5,5		5
IPN 5	5,0		5
IPN 6	5,5		5
IPN 7	5,5		5
IPN 1	5,2	ADR	5
IPN 2	5,5		5
IPN 3	5,3		5
IPN 4	5,6		5
IPN 5	5,8		5
IPN 6	5,2		5
IPN 7	5,9		5
IPN 1	5,1	CAF	5
IPN 2	5,1		5
IPN 3	5,6		5
IPN 4	5,2		5
IPN 5	5,8		5
IPN 6	5,3		5
IPN 7	5,0		5
IPN 1	5,1	Na-IBU	5
IPN 2	5,3		5
IPN 3	5,2		5
IPN 4	5,3		5
IPN 5	5,5		5
IPN 6	5,6		5
IPN 7	5,8		5

**Anexo 32** – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (primeiro método). Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH ácido e concentração de fármaco de 2 mM.

Hidrogel	Massa de Hidrogel (mg)	Fármaco	Volume de solução (mL)
IPN 1	5,2	3-APy	10
IPN 2	5,1		10
IPN 3	5,4		10
IPN 4	5,4		10
IPN 5	5,6		10
IPN 6	5,2		10
IPN 7	5,2		10
IPN 1	5,0	ADR	10
IPN 2	5,5		10
IPN 3	5,0		10
IPN 4	5,6		10
IPN 5	5,3		10
IPN 6	5,1		10
IPN 7	5,3		10
IPN 1	5,4	5-FU	10
IPN 2	5,1		10
IPN 3	5,0		10
IPN 4	5,2		10
IPN 5	5,1		10
IPN 6	5,0		10
IPN 7	4,9		10

**Anexo 33** – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (primeiro método). Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH alcalino e concentração de fármaco de 2 mM.

Hidrogel	Massa de Hidrogel (mg)	Fármaco	Volume de solução (mL)
IPN 1	5,6	3-APy	10
IPN 2	5,0		10
IPN 3	5,5		10
IPN 4	4,9		10
IPN 5	5,2		10
IPN 6	5,0		10
IPN 7	4,8		10
IPN 1	5,7	ADR	10
IPN 2	5,8		10
IPN 3	5,5		10
IPN 4	5,5		10
IPN 5	5,6		10
IPN 6	5,1		10
IPN 7	5,3		10

**Anexo 30**  
**(Continuação)**

<b>Hidrogel</b>	<b>Massa de Hidrogel (mg)</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Volume de solução (mL)</b>
IPN 1	5,5	5-FU	10
IPN 2	5,5		10
IPN 3	5,0		10
IPN 4	4,9		10
IPN 5	5,8		10
IPN 6	5,2		10
IPN 7	5,5		10

**Anexo 34** – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (primeiro método). Condições de teste: temperatura de 40 °C, pH neutro e concentração de fármaco de 2 mM.

<b>Hidrogel</b>	<b>Massa de Hidrogel (mg)</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Volume de solução (mL)</b>
IPN 1	5,3	3-APy	5
IPN 2	5,8		5
IPN 3	5,1		5
IPN 4	5,9		5
IPN 5	5,0		5
IPN 6	5,2		5
IPN 7	5,0		5
IPN 1	5,0	ADR	5
IPN 2	5,8		5
IPN 3	5,3		5
IPN 4	5,0		5
IPN 5	5,9		5
IPN 6	5,7		5
IPN 7	5,2		5
IPN 1	5,8	5-FU	5
IPN 2	5,8		5
IPN 3	5,2		5
IPN 4	5,2		5
IPN 5	5,4		5
IPN 6	5,3		5
IPN 7	5,8		5

**Anexo 35** – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (segundo método). Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH neutro e concentração de fármaco de 0,1 mM.

<b>Hidrogel</b>	<b>Massa de Hidrogel (mg)</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Volume de solução (mL)</b>
IPN 6	30,1	5-FU	10
IPN 8	30,1		10
IPN 9	29,9		10
IPN 10	30,0		10
IPN 6	30,1	CAF	2
IPN 8	30,1		2
IPN 9	29,9		2
IPN 10	30,0		2
IPN 6	30,1	Na-IBU	2
IPN 8	30,1		2
IPN 9	29,9		2
IPN 10	30,0		2
IPN 6	30,1	3-APy	2
IPN 8	30,1		2
IPN 9	29,9		2
IPN 10	30,0		2

**Anexo 36** – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (segundo método). Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH ácido e concentração de fármaco de 0,1 mM.

<b>Hidrogel</b>	<b>Massa de Hidrogel (mg)</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Volume de solução (mL)</b>
IPN 6	30,3	5-FU	2
IPN 8	30,1		2
IPN 9	30,3		2
IPN 10	30,2		2
IPN 6	30,3	CAF	2
IPN 8	30,1		2
IPN 9	30,3		2
IPN 10	30,2		2
IPN 6	30,3	Na-IBU	2
IPN 8	30,1		2
IPN 9	30,3		2
IPN 10	30,2		2
IPN 6	30,3	3-APy	2
IPN 8	30,1		2
IPN 9	30,3		2
IPN 10	30,2		2

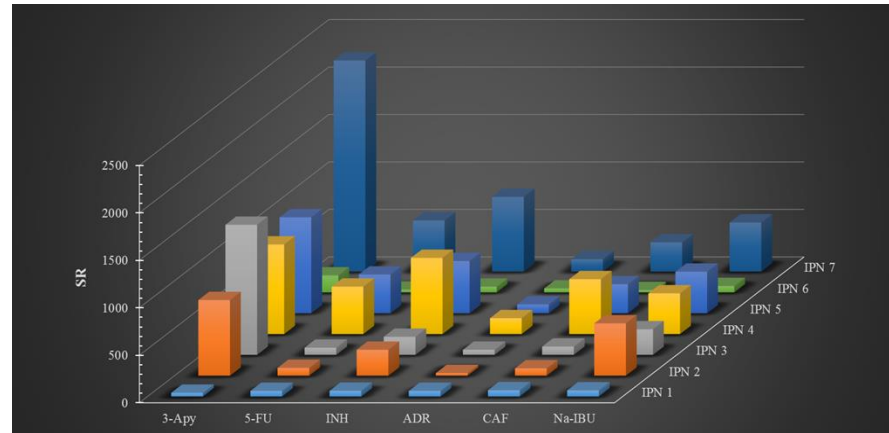
**Anexo 37** – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (segundo método). Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH alcalino e concentração de fármaco de 0,1 mM.

Hidrogel	Massa de Hidrogel (mg)	Fármaco	Volume de solução (mL)
IPN 6	30,0	5-FU	2
IPN 8	29,9		2
IPN 9	30,2		2
IPN 10	30,4		2
IPN 6	30,0	CAF	2
IPN 8	29,9		2
IPN 9	30,2		2
IPN 10	30,4		2
IPN 6	30,0	Na-IBU	2
IPN 8	29,9		2
IPN 9	30,2		2
IPN 10	30,4		2
IPN 6	30,0	3-APy	2
IPN 8	29,9		2
IPN 9	30,2		2
IPN 10	30,4		2

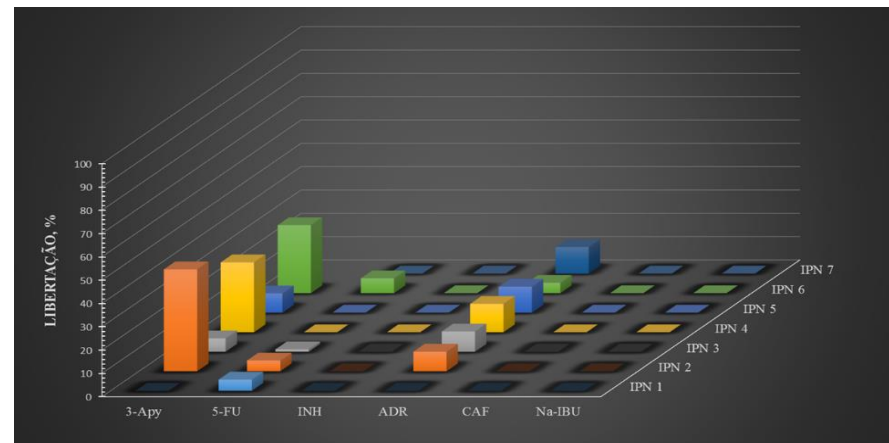
**Anexo 38** – Quantidades efetivas de massa de hidrogel e volume de solução utilizadas no primeiro teste por SPE (segundo método). Condições de teste: temperatura de 40 °C, pH neutro e concentração de fármaco de 0,1 mM.

Hidrogel	Massa de Hidrogel (mg)	Fármaco	Volume de solução (mL)
IPN 6	30,4	5-FU	2
IPN 8	30,3		2
IPN 9	29,9		2
IPN 10	30,3		2
IPN 6	30,4	CAF	2
IPN 8	30,3		2
IPN 9	29,9		2
IPN 10	30,3		2
IPN 6	30,4	Na-IBU	2
IPN 8	30,3		2
IPN 9	29,9		2
IPN 10	30,3		2
IPN 6	30,4	3-APy	2
IPN 8	30,3		2
IPN 9	29,9		2
IPN 10	30,3		2

**Anexo 39** – Resultados obtidos por SPE (**Primeiro Método**). Testes de adsorção, liberação e razão de inchamento utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA e AA. Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH neutro (~7) e concentração de fármaco de 2 mM.

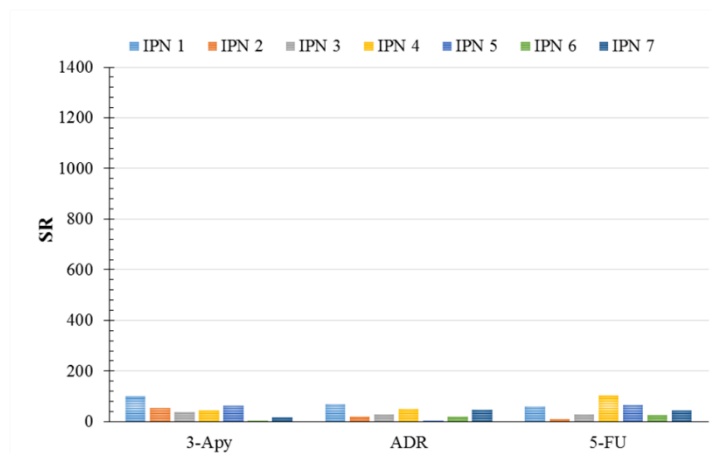


a) Comparação da variação da razão de inchamento dos hidrogéis em soluções aquosas contendo diferentes fármacos.

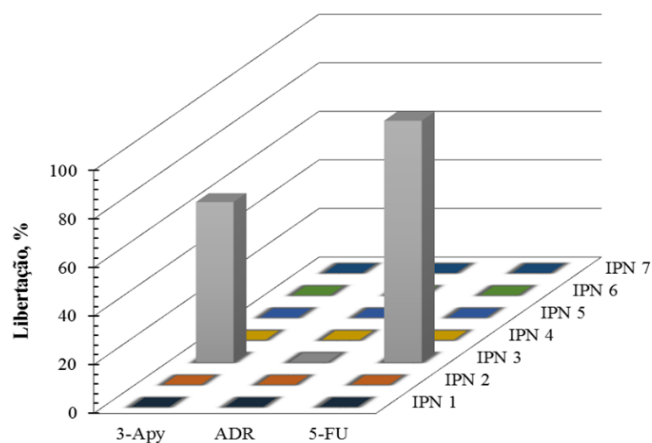


b) Comparação da fração de fármaco libertada dos diferentes hidrogéis, depois de passar 10 mL de água DI.

**Anexo 40** – Resultados obtidos por SPE (**Primeiro Método**). Testes de adsorção, liberação e razão de inchamento utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA e AA. Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH ácido (2,94) e concentração de fármaco de 2 mM.

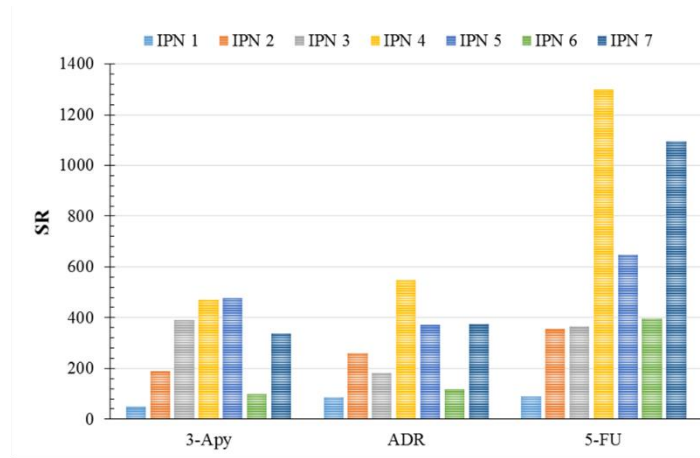


a) Comparação da variação da razão de inchamento dos hidrogéis em soluções aquosas contendo diferentes fármacos a pH ácido

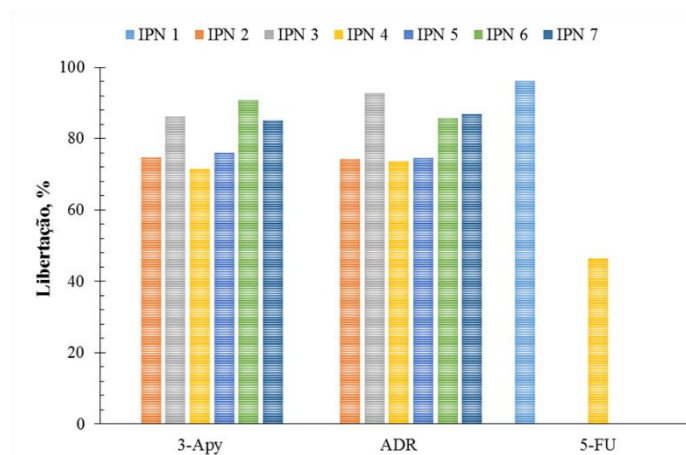


b) Comparação da fração de fármaco libertada dos diferentes hidrogéis, depois de passar 5 mL de água DI.

**Anexo 41** – Resultados obtidos por SPE (**Primeiro Método**). Testes de adsorção, liberação e razão de inchamento utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA e AA. Condições de teste: temperatura de 20 °C, pH alcalino (9,75) e concentração de fármaco de 2 mM.

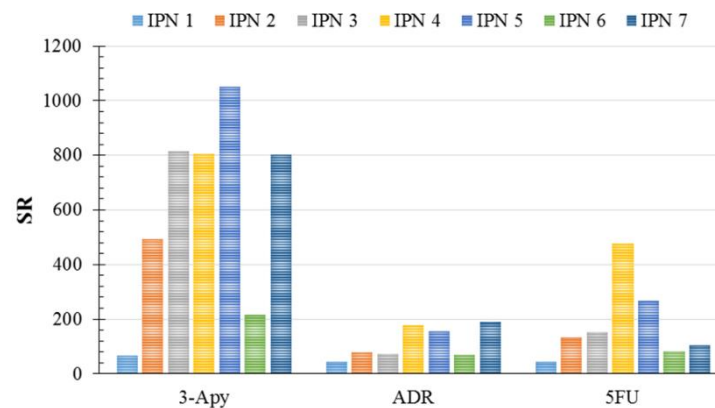


a) Comparação da variação da razão de inchamento dos hidrogéis em soluções aquosas contendo diferentes fármacos a pH alcalino

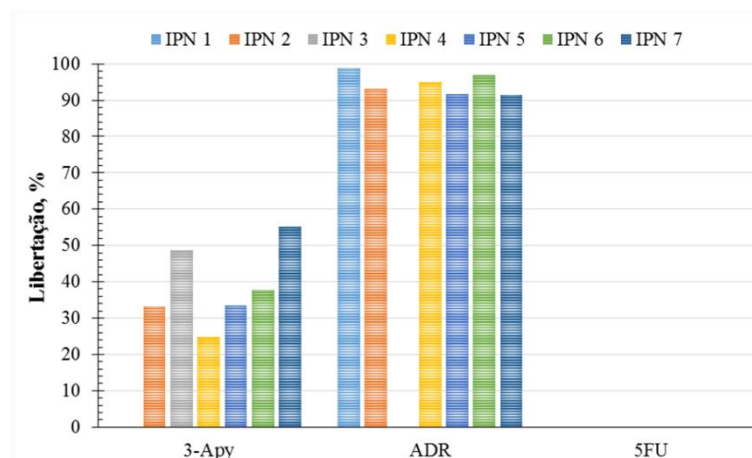


b) Comparação da fração de fármaco libertada dos diferentes hidrogéis, depois de passar 5 mL de água DI.

**Anexo 42** – Resultados obtidos por SPE (**Primeiro Método**). Testes de adsorção, liberação e razão de inchamento utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA e AA. Condições de teste: temperatura de 40 °C, pH neutro (~7) e concentração de fármaco de 2 mM.



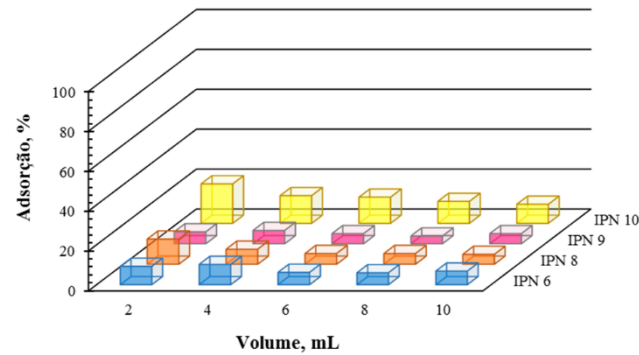
a) Comparação da variação da razão de inchamento dos hidrogéis em soluções aquosas contendo diferentes fármacos a uma temperatura de 40 °C.



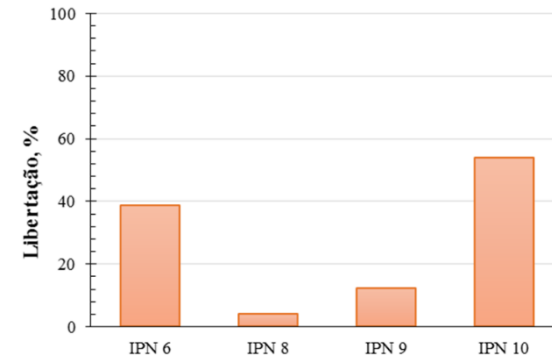
b) Comparação da fração de fármaco libertada dos diferentes hidrogéis, depois de passar 5 mL de água DI.

**Anexo 43** – Resultados obtidos por SPE (**Segundo Método**). Testes de adsorção e liberação utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA, AA e DMAEMA. Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH neutro (7,54) e concentração de fármaco de 0,1 mM.

5-FU

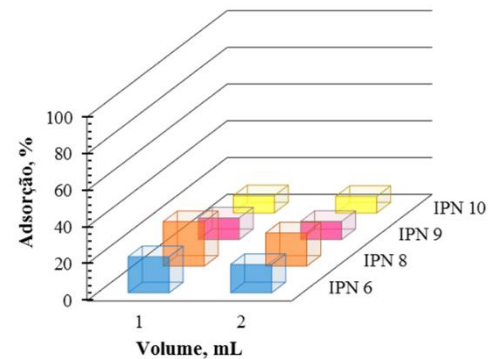


Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.

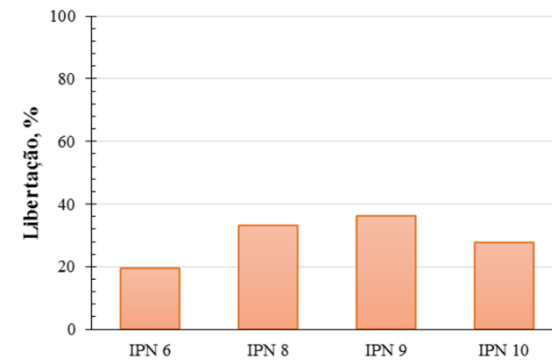


Fração de fármaco libertada depois de passar 10 mL de água DI.

CAF



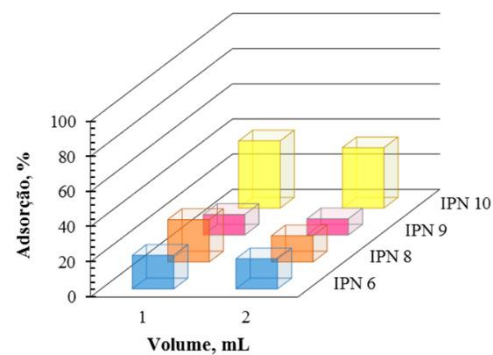
Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.



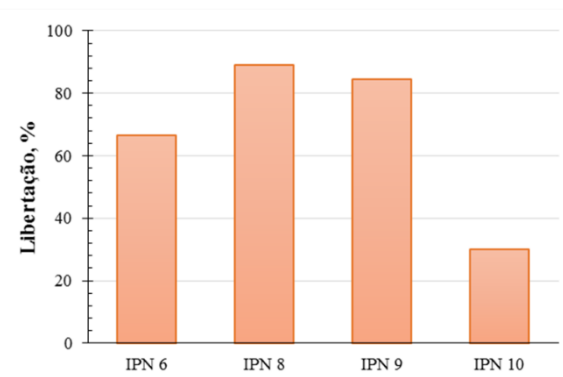
Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

**Anexo 43**  
**(Continuação)**

Na-IBU

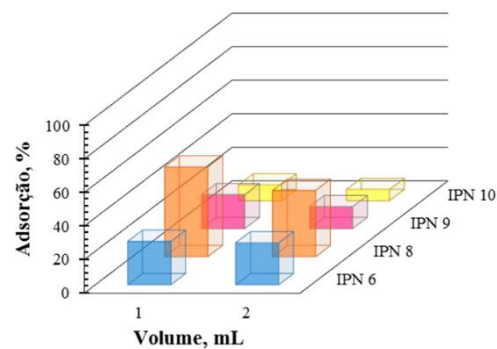


Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.

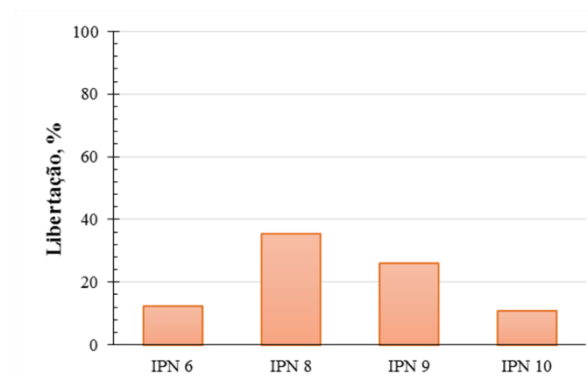


Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

3-APy



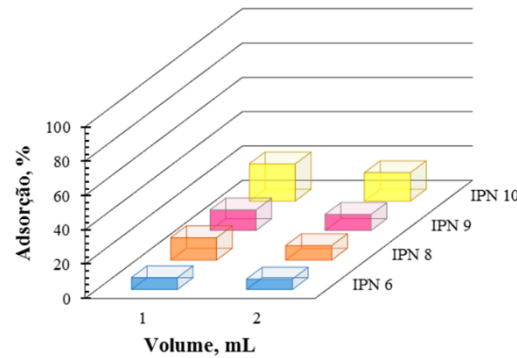
Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.



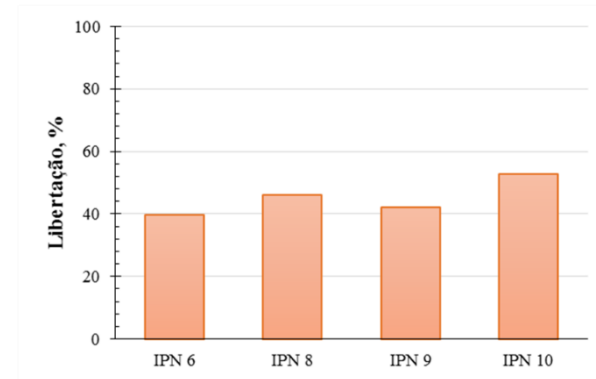
Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

**Anexo 44** – Resultados obtidos por SPE (**Segundo Método**). Testes de adsorção e liberação utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA, AA e DMAEMA. Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH ácido (1,7) e concentração de fármaco de 0,1 mM.

5-FU

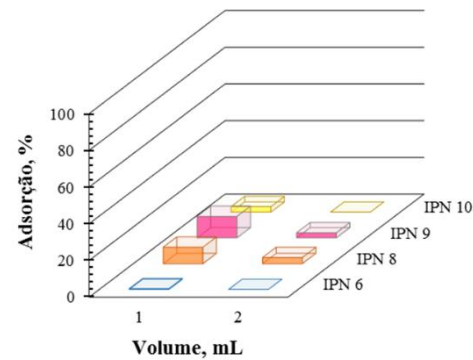


Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.

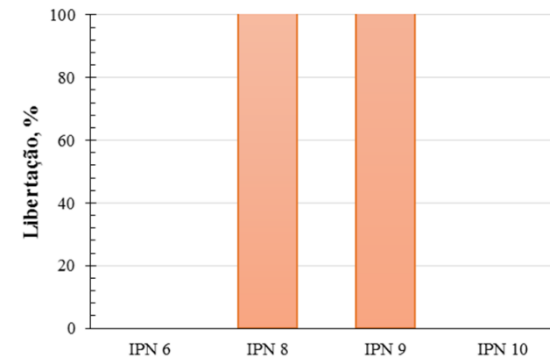


Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

CAF



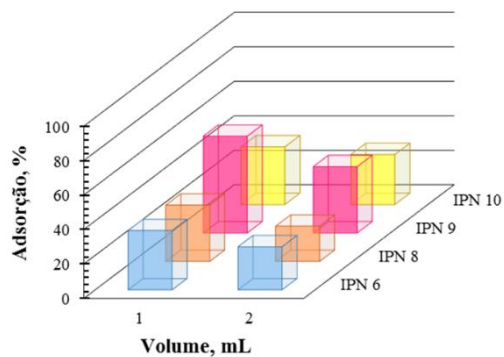
Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.



Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

**Anexo 44  
(Continuação)**

Na-IBU

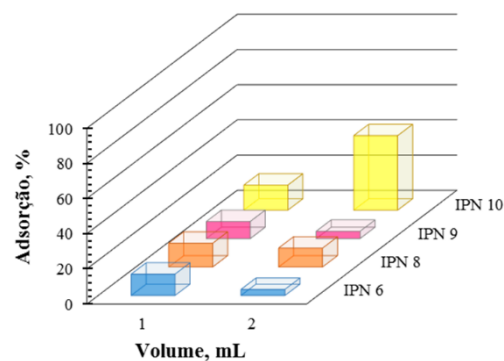


Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.

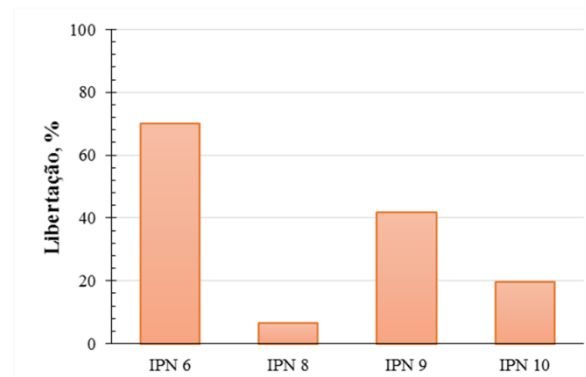


Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

3-APy



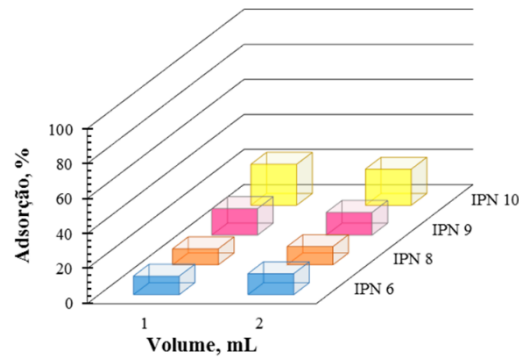
Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.



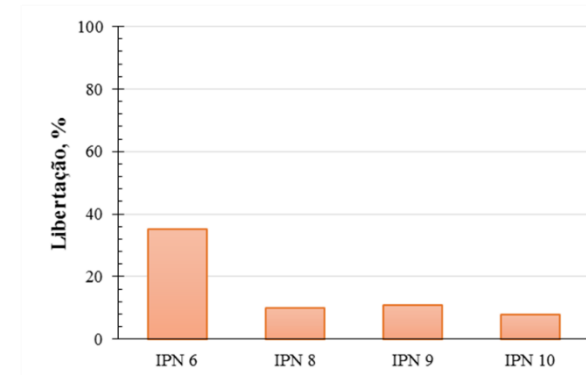
Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

**Anexo 45** – Resultados obtidos por SPE (**Segundo Método**). Testes de adsorção e liberação utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA, AA e DMAEMA. Condições de teste: temperatura de 25 °C, pH alcalino (10) e concentração de fármaco de 0,1 mM.

5-FU

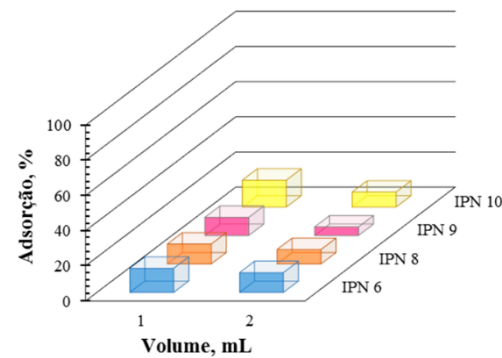


Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.

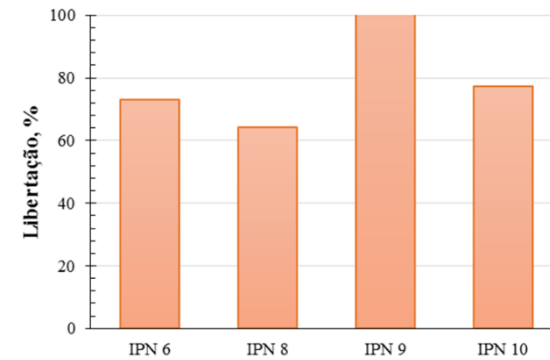


Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

CAF



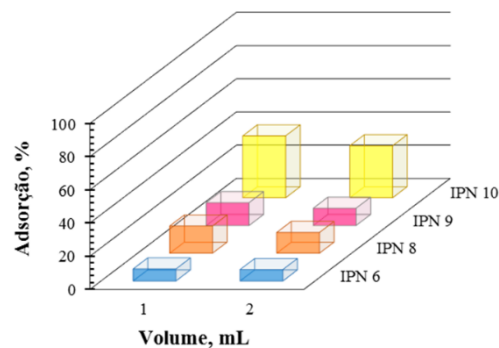
Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.



Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

**Anexo 45**  
**(Continuação)**

Na-IBU

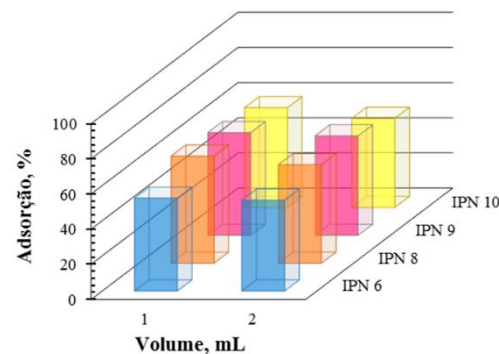


Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.

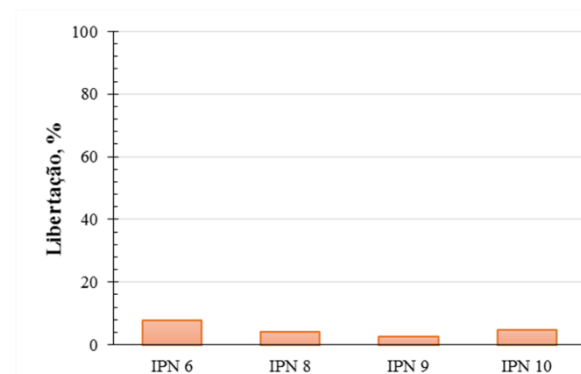


Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

3-APy



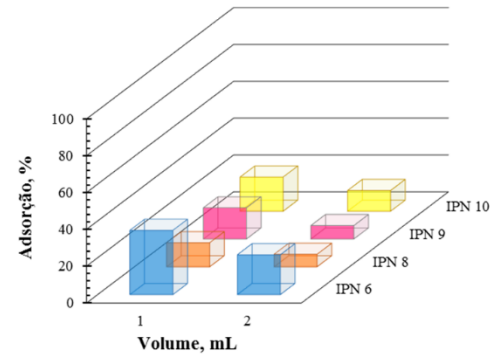
Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.



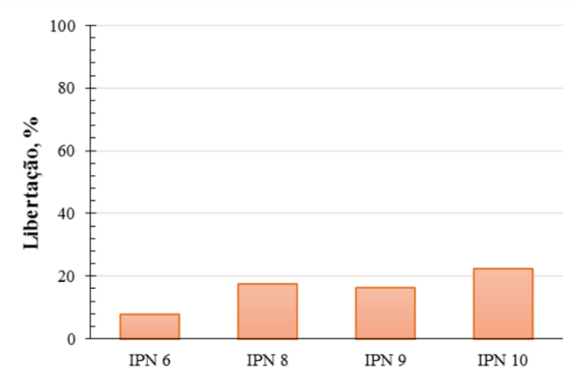
Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

**Anexo 46** – Resultados obtidos por SPE (**Segundo Método**). Testes de adsorção e liberação utilizando diferentes soluções de fármacos em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em NIPA, AA e DMAEMA. Condições de teste: temperatura de 40 °C, pH neutro (7,54) e concentração de fármaco de 0,1 mM.

5-FU

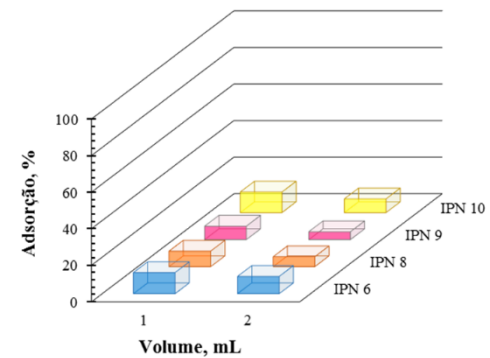


Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.

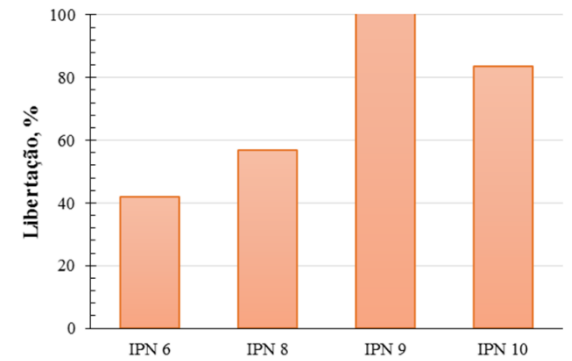


Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

CAF



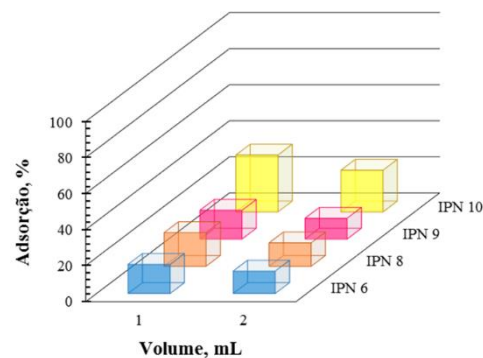
Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.



Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

**Anexo 46**  
**(Continuação)**

Na-IBU

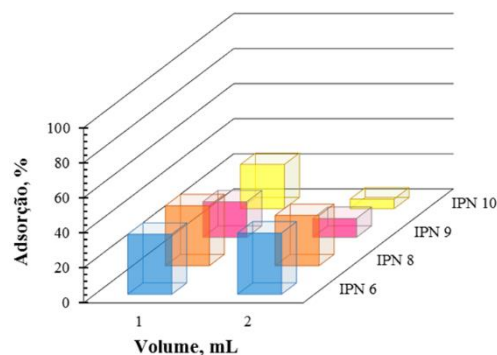


Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.

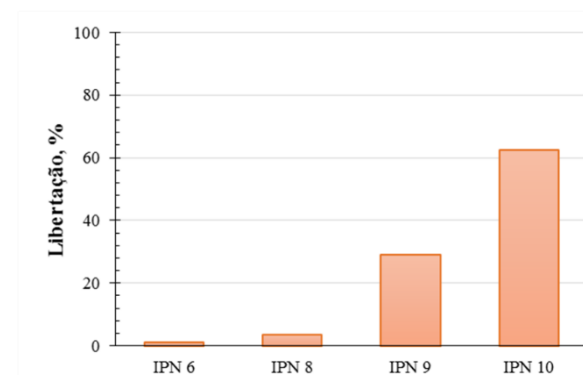


Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

3-APy

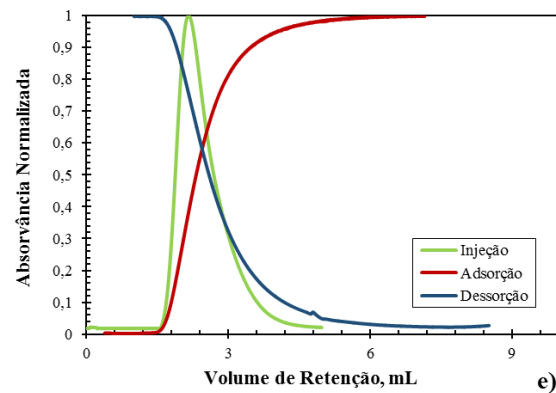
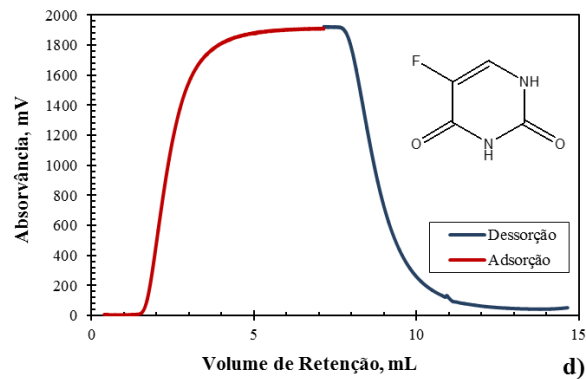
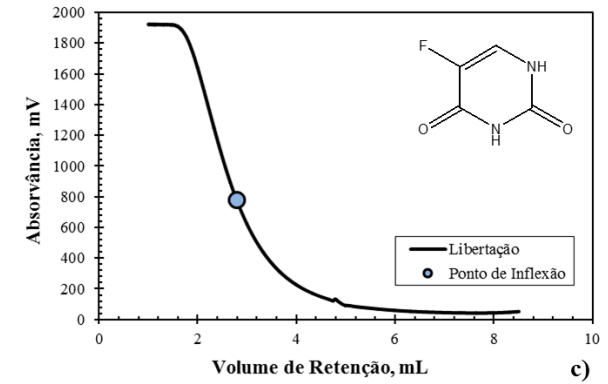
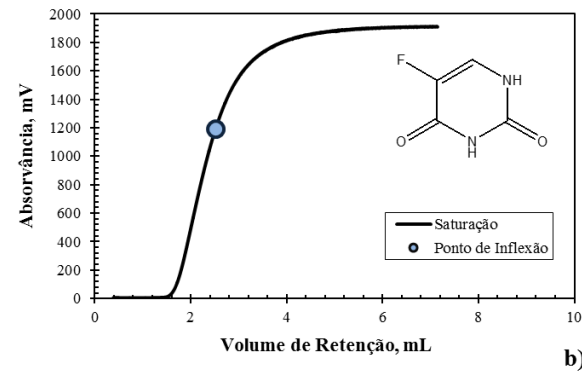
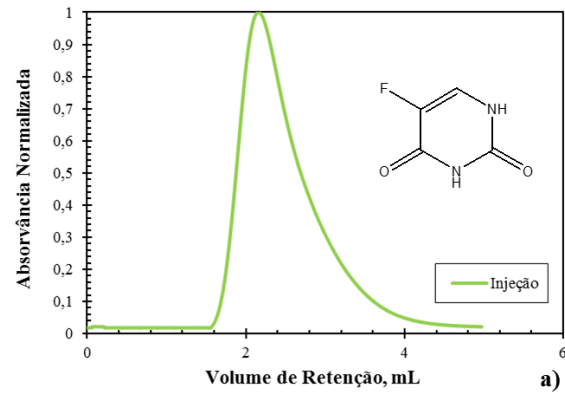


Fração de fármaco retido nos diferentes hidrogéis tendo em conta a variação do volume de solução.



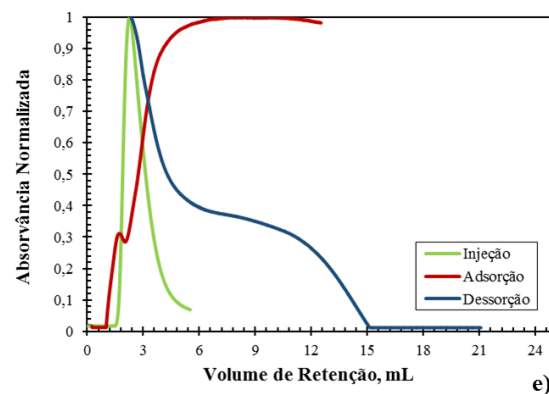
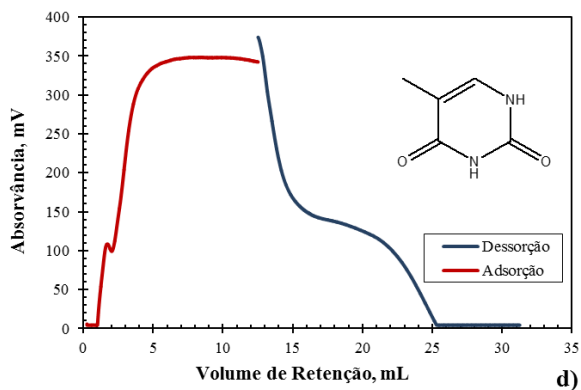
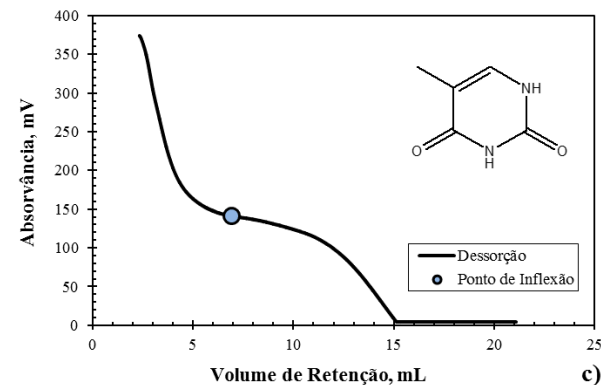
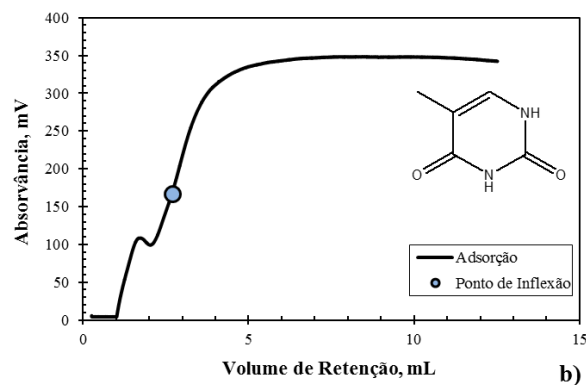
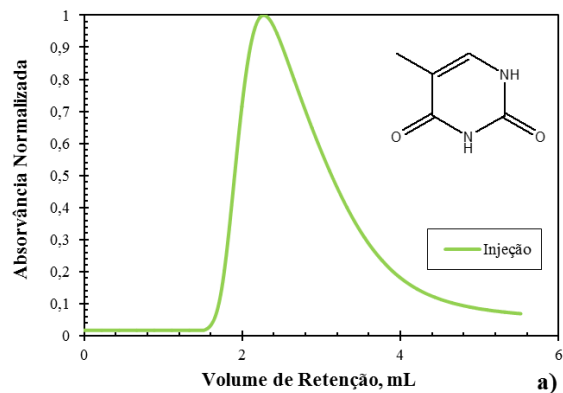
Fração de fármaco libertada depois de passar 2 mL de água DI.

**Anexo 47** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas convencionais baseadas em AA. Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,5$  mM,  $Q=0,15$  mL/min e uma coluna contendo 15,7 mg de hidrogel seco.



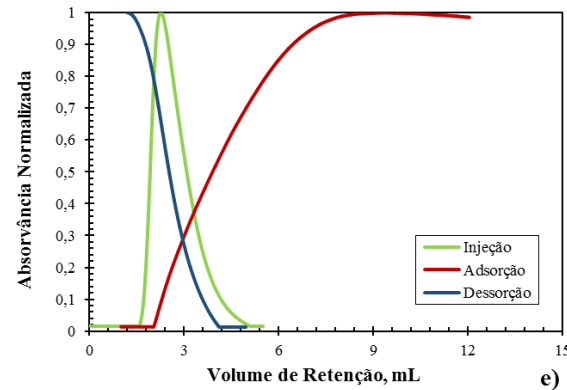
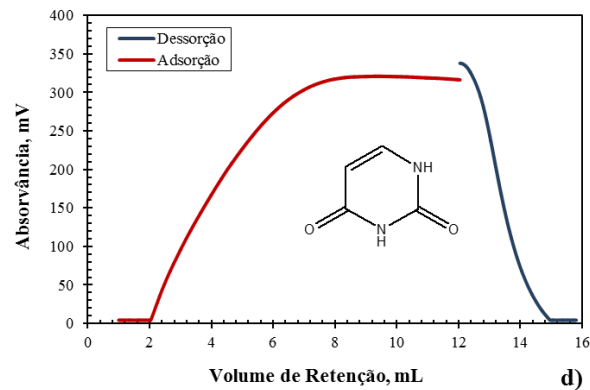
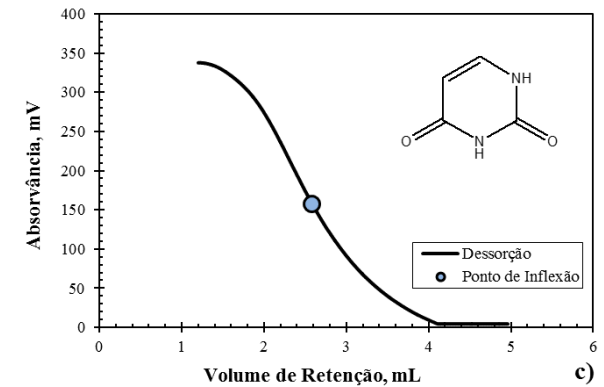
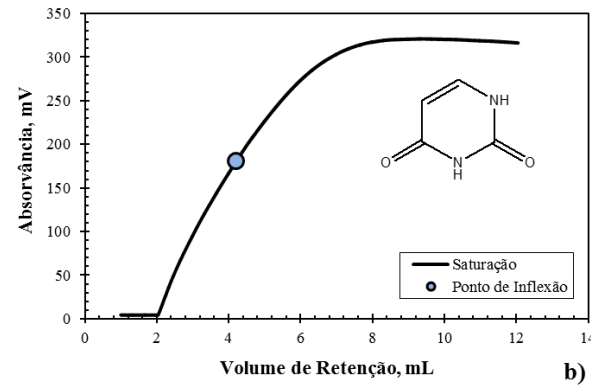
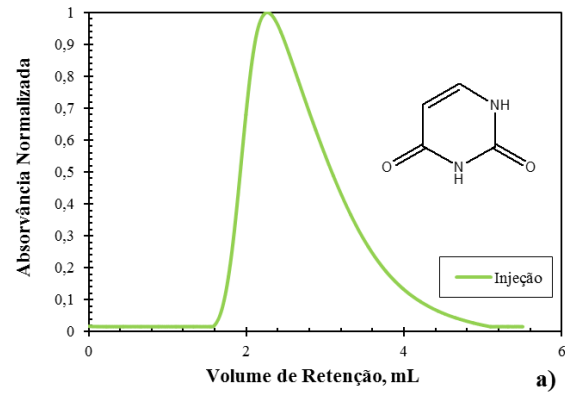
- a) Perfil de injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- b) Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- c) Perfil de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- d) Perfil de adsorção e dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- e) Perfil de adsorção, dessorção e injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.

**Anexo 48** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a THY em redes poliméricas convencionais baseadas em AA. Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $Q=0,15$  mL/min e uma coluna contendo 15,7 mg de hidrogel seco.



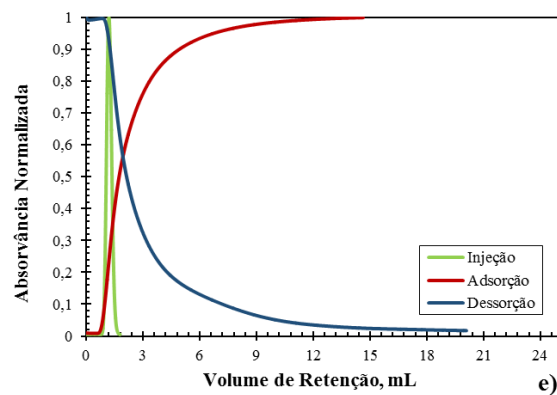
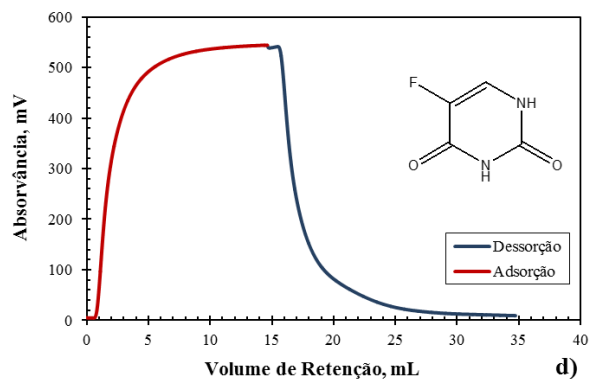
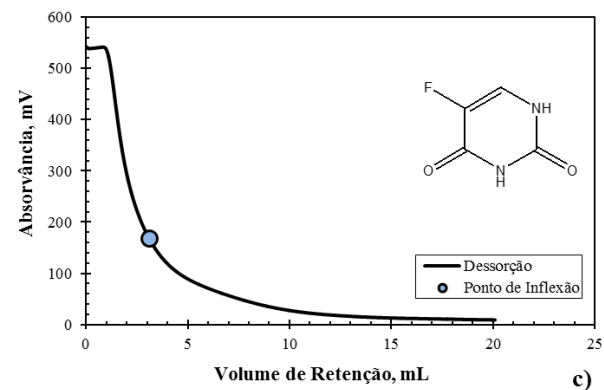
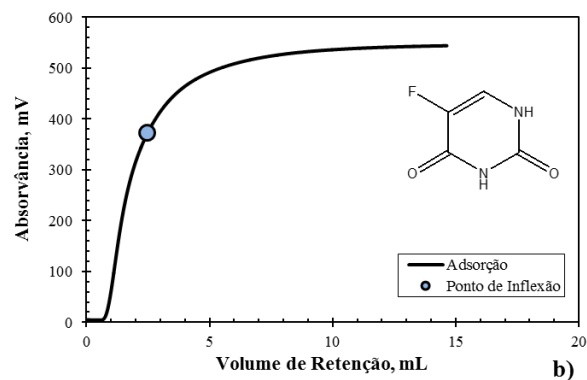
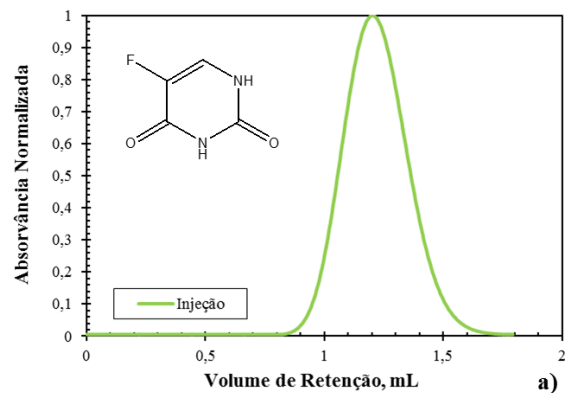
- a) Perfil de injeção para o THY numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- b) Perfil de adsorção para o THY numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- c) Perfil de desorção para o THY numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- d) Perfil de adsorção e desorção para o THY numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- e) Perfil de adsorção, desorção e injeção para o THY numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.

**Anexo 49** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o UR em redes poliméricas convencionais baseadas em AA. Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $Q=0,15$  mL/min e uma coluna contendo 15,7 mg de hidrogel seco.



- a) Perfil de injeção para o UR numa coluna contendo hidrogel baseados em AA.
- b) Perfil de adsorção para o UR numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- c) Perfil de desorção para o UR numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- d) Perfil de adsorção e desorção para o UR numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.
- e) Perfil de adsorção, desorção e injeção para o UR numa coluna contendo hidrogel baseado em AA.

**Anexo 50** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas convencionais baseadas em DMAEMA. Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 50,0 mg de hidrogel seco.



a) Perfil de injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseados em DMAEMA.

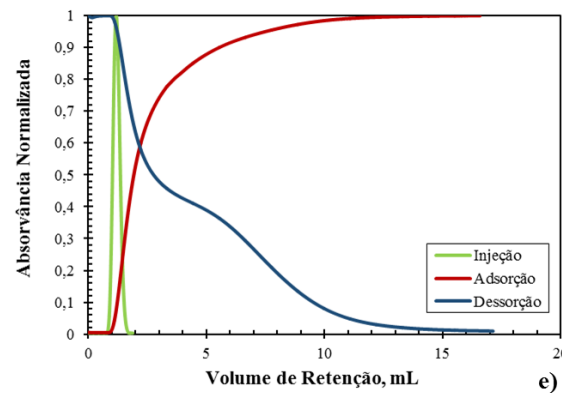
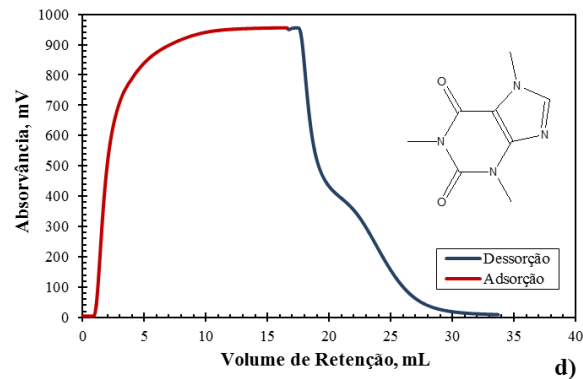
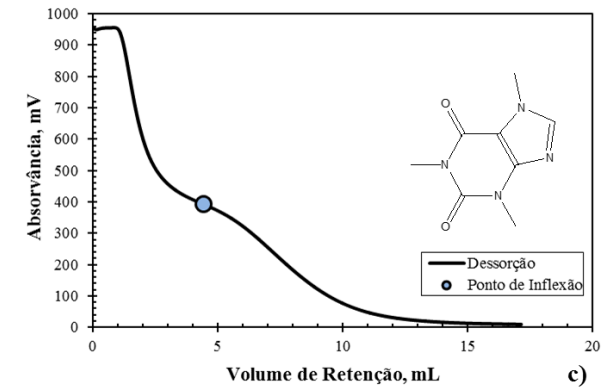
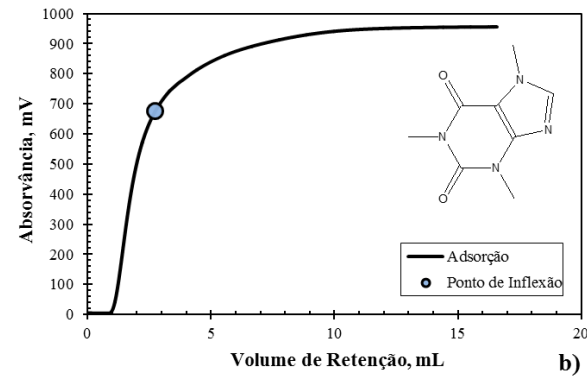
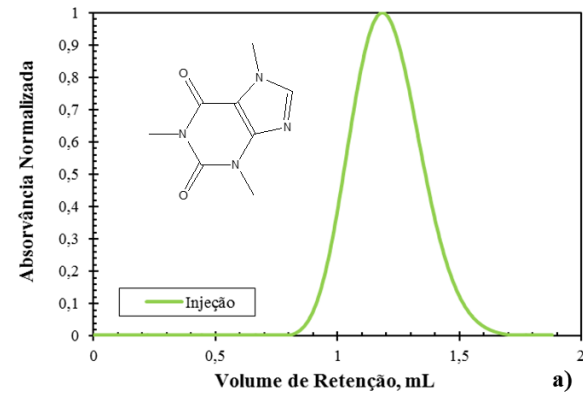
b) Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em DMAEMA.

c) Perfil de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em DMAEMA.

d) Perfil de adsorção e dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em DMAEMA.

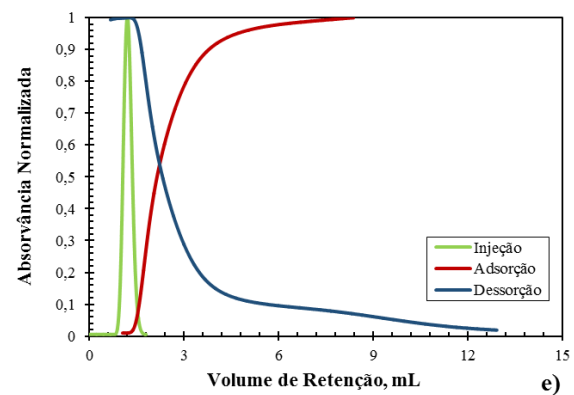
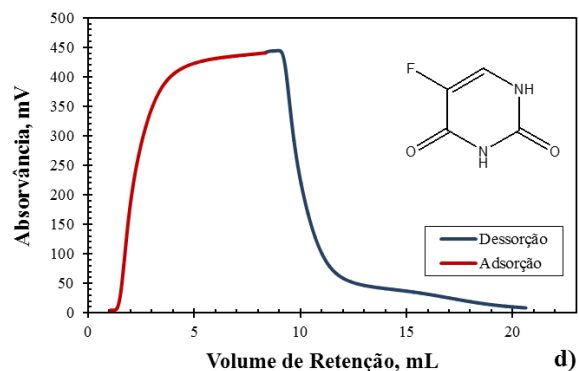
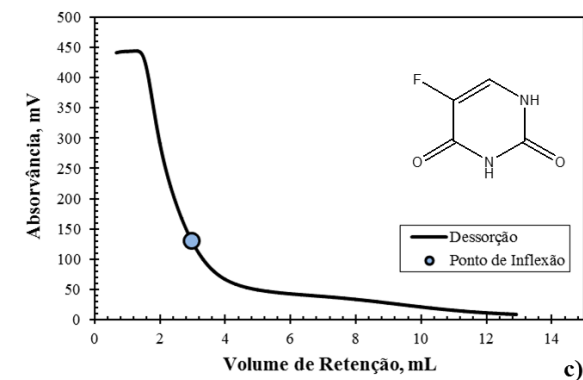
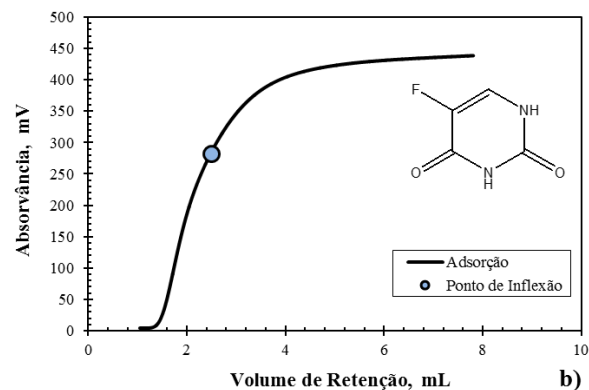
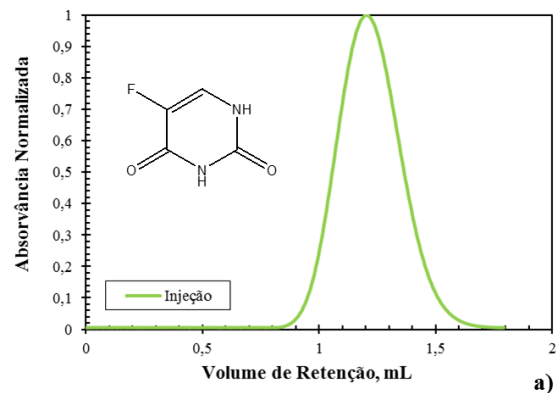
e) Perfil de adsorção, dessorção e injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em DMAEMA.

**Anexo 51** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em DMAEMA. Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 50,0 mg de hidrogel seco.



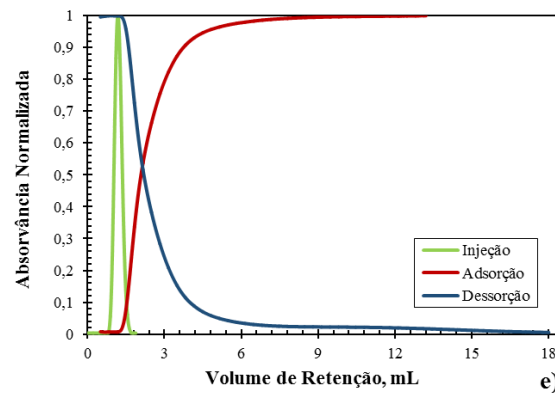
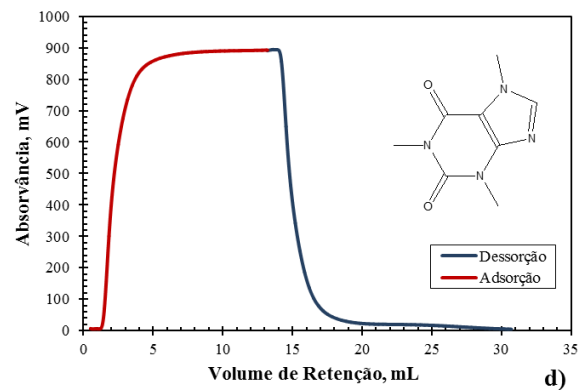
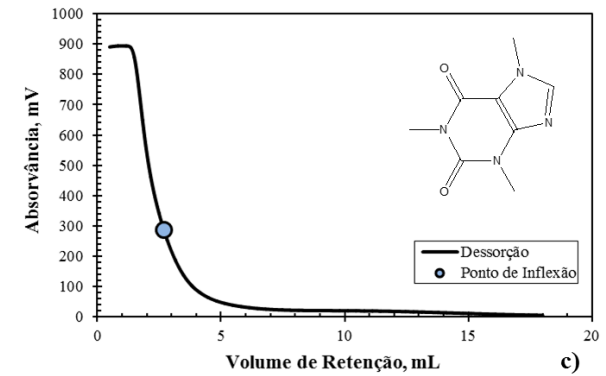
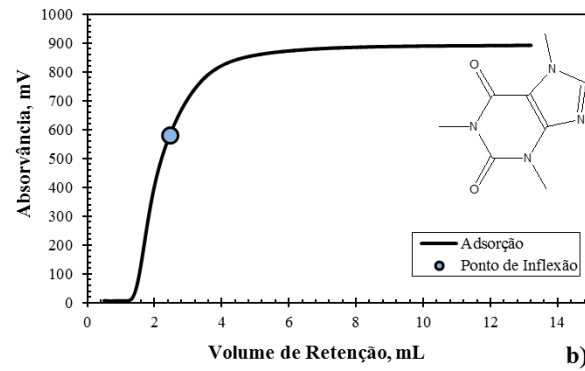
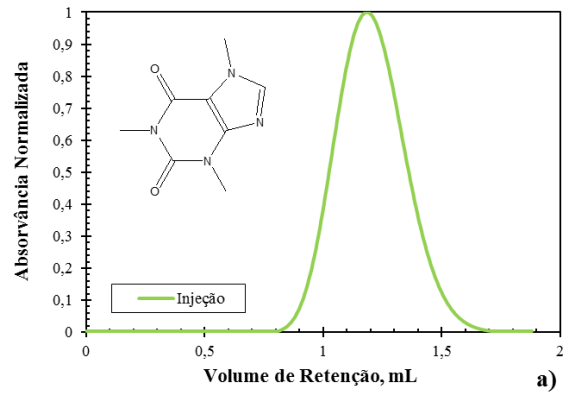
- a) Perfil de injeção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em DMAEMA.
- b) Perfil de adsorção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em DMAEMA.
- c) Perfil de desorção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em DMAEMA.
- d) Perfil de adsorção e desorção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em DMAEMA.
- e) Perfil de adsorção, desorção e injeção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em DMAEMA.

**Anexo 52** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA. Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $Q=0,15$  mL/min e uma coluna contendo 7,3 mg de hidrogel seco.



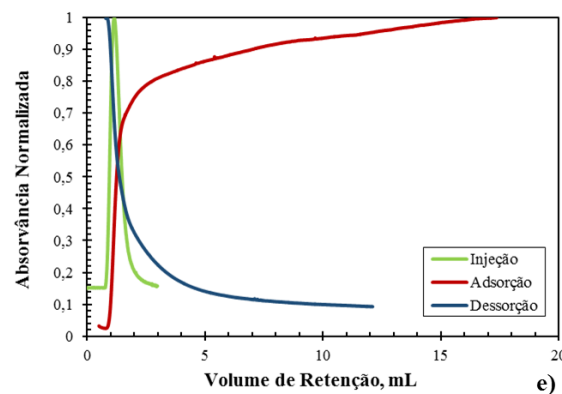
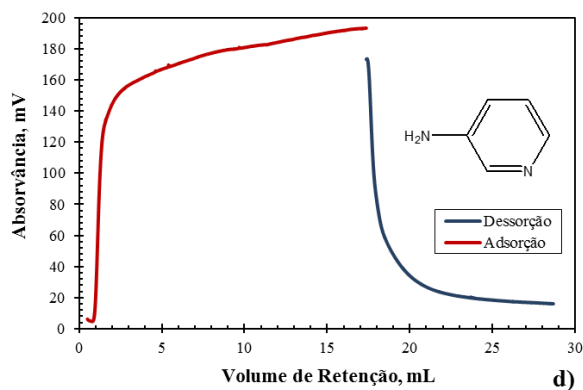
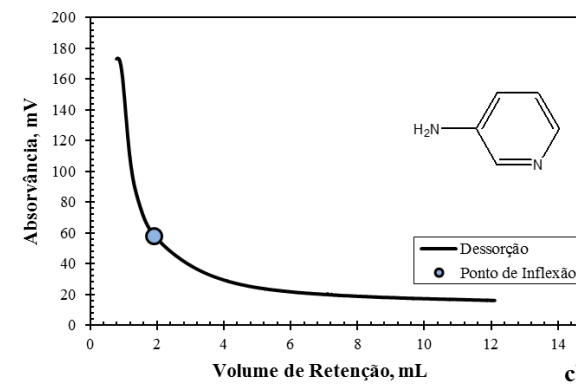
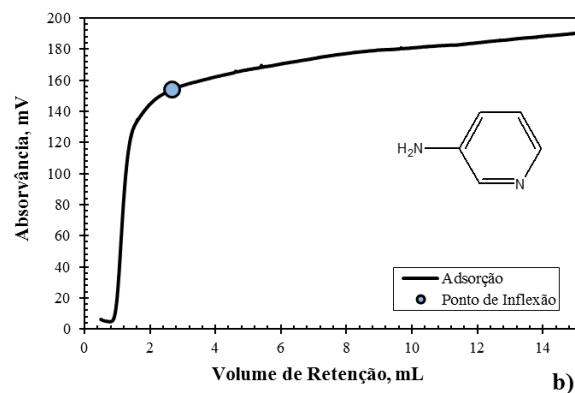
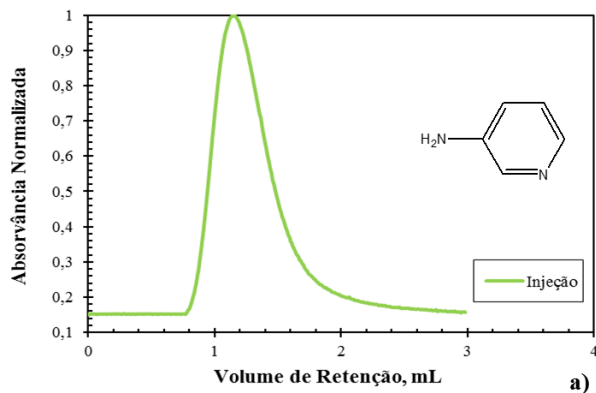
- a) Perfil de injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseados em NIPA+MAA.
- b) Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em NIPA+MAA.
- c) Perfil de desorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em NIPA+MAA.
- d) Perfil de adsorção e desorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em NIPA+MAA.
- e) Perfil de adsorção, desorção e injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em NIPA+MAA.

**Anexo 53** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a CAF em redes poliméricas convencionais baseadas em NIPA+MAA. Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $Q=0,15$  mL/min e uma coluna contendo 7,3 mg de hidrogel seco.



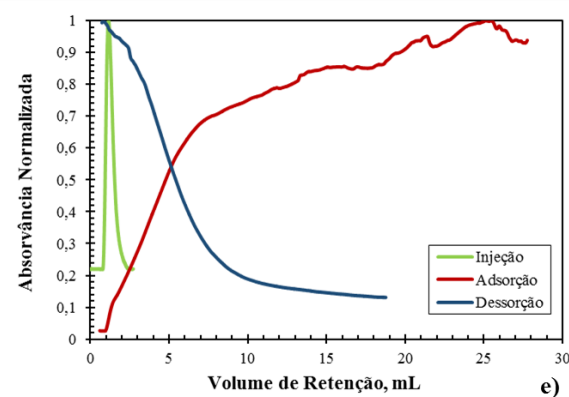
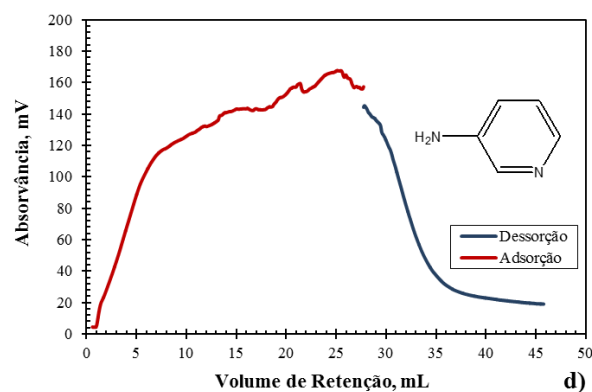
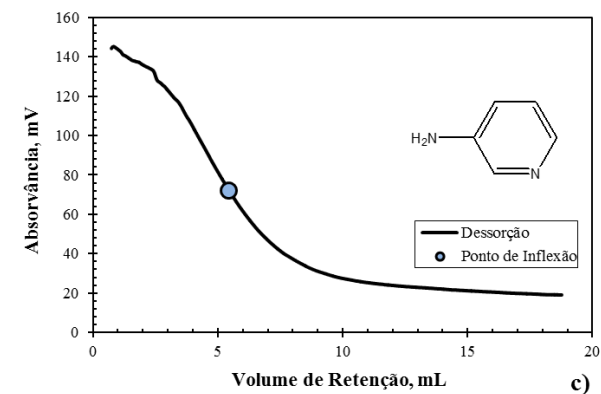
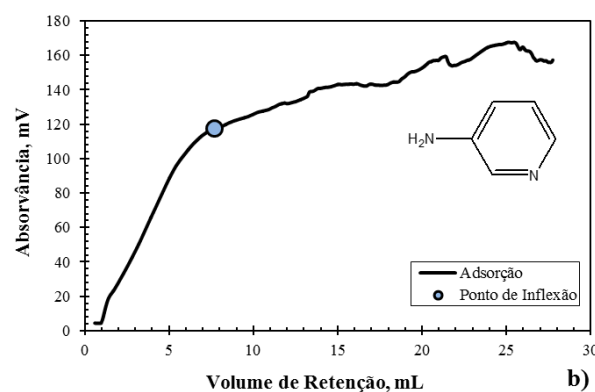
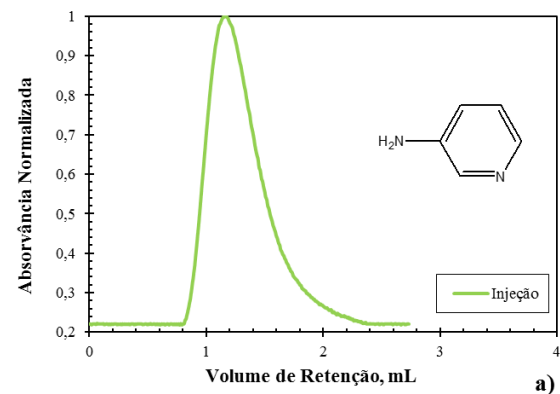
- a)** Perfil de injeção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em NIPA+MAA.
- b)** Perfil de adsorção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em NIPA+MAA.
- c)** Perfil de desorção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em NIPA+MAA.
- d)** Perfil de adsorção e desorção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em NIPA+MAA.
- e)** Perfil de adsorção, desorção e injeção para o CAF numa coluna contendo hidrogel baseado em NIPA+MAA.

**Anexo 54** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=25$  °C,  $pH=7$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 50,6 mg de hidrogel seco.



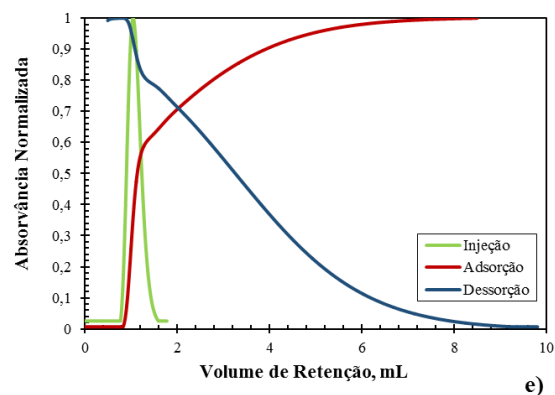
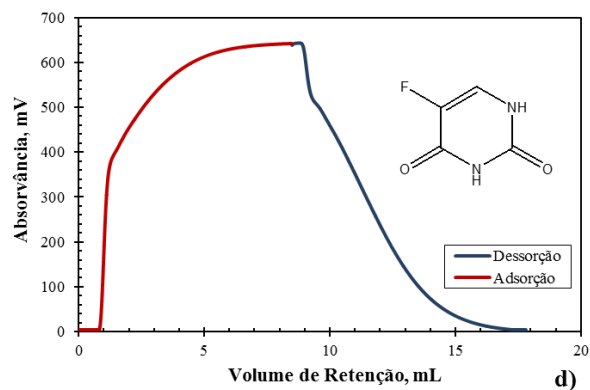
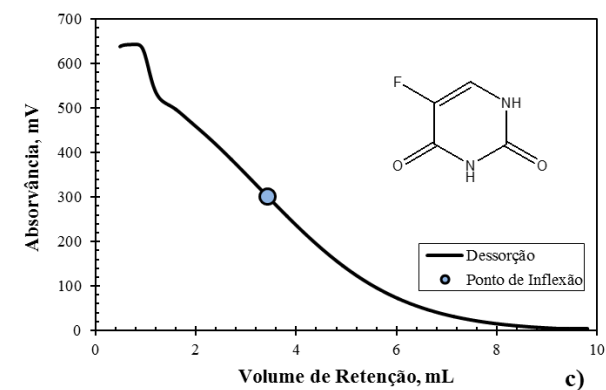
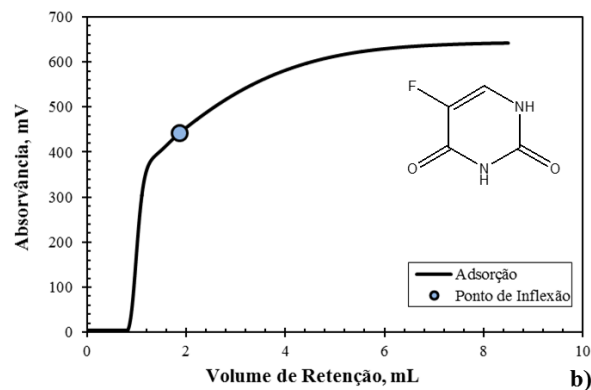
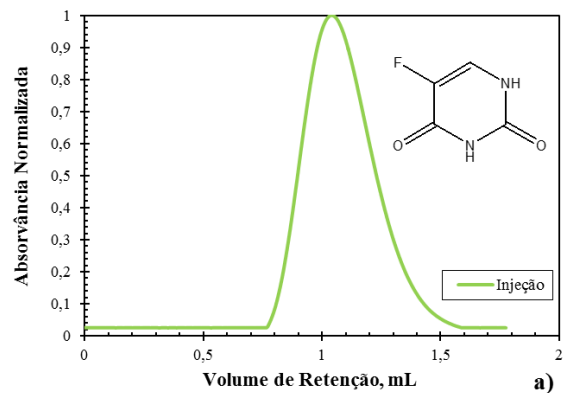
- a) Perfil de injeção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- b) Perfil de adsorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- c) Perfil de dessorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- d) Perfil de adsorção e dessorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- e) Perfil de adsorção, dessorção e injeção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).

**Anexo 55** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=40$  °C,  $pH=7$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 50,6 mg de hidrogel seco.



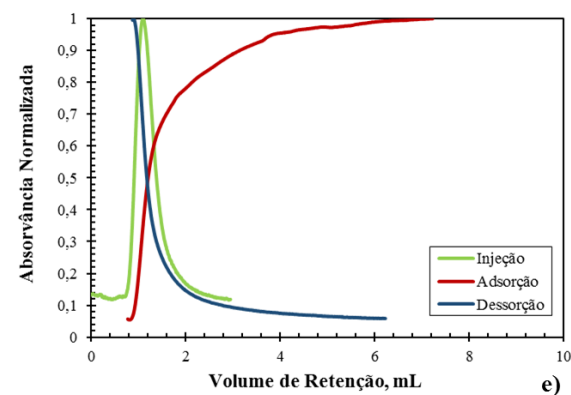
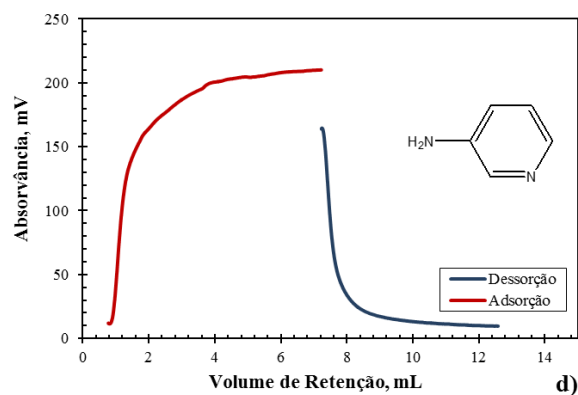
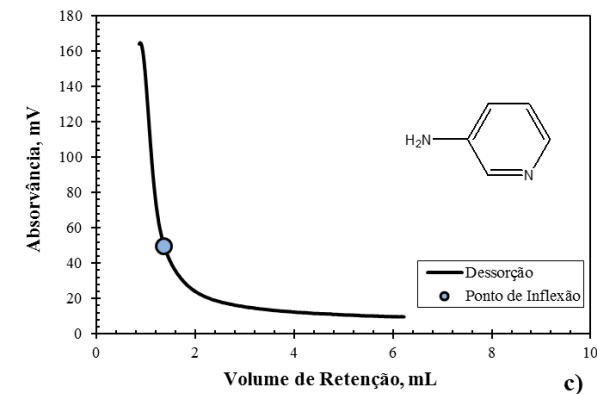
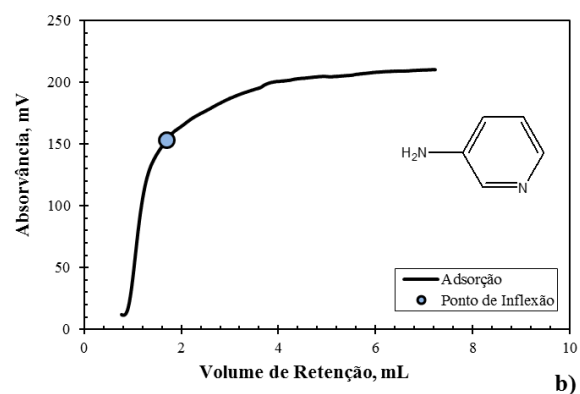
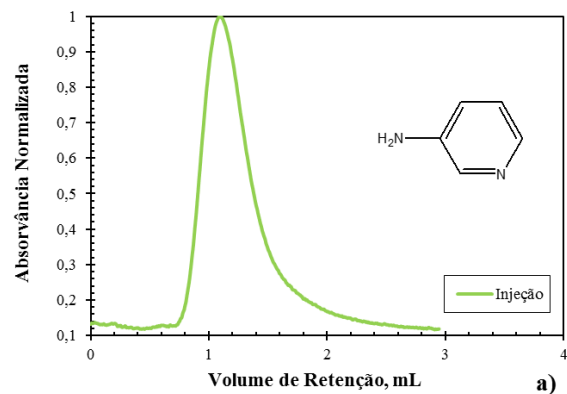
- a)** Perfil de injeção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseados em AA+NIPA (IPN 6).  
**b)** Perfil de adsorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).  
**c)** Perfil de dessorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).  
**d)** Perfil de adsorção e dessorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).  
**e)** Perfil de adsorção, dessorção e injeção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).

**Anexo 56** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=40$  °C,  $pH=7$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 50,6 mg de hidrogel seco.



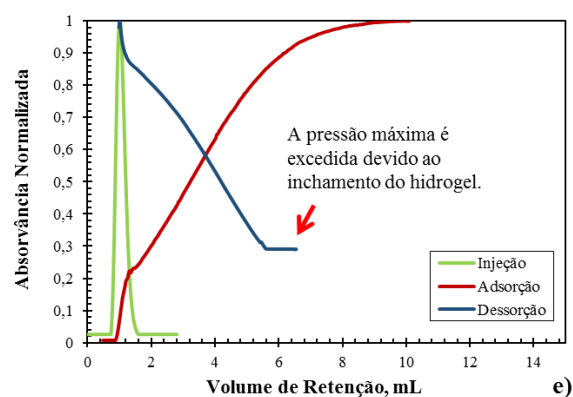
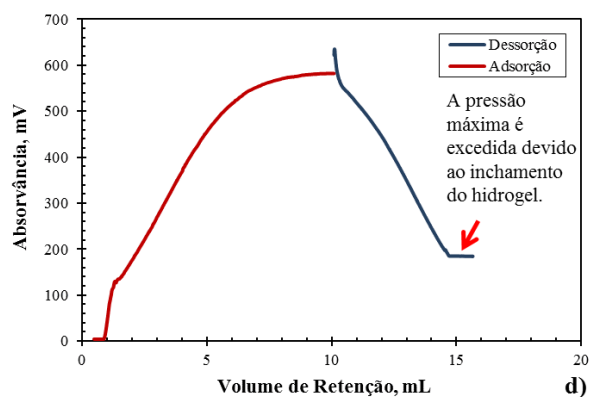
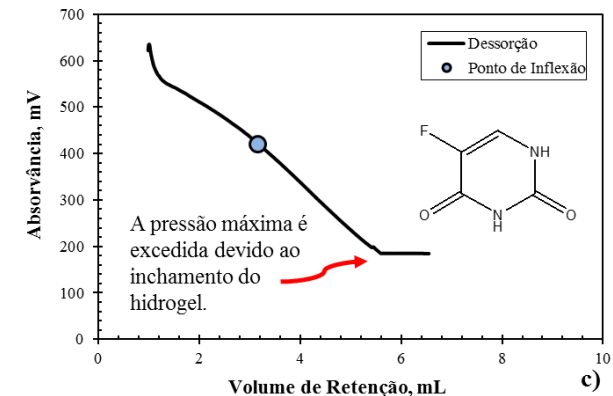
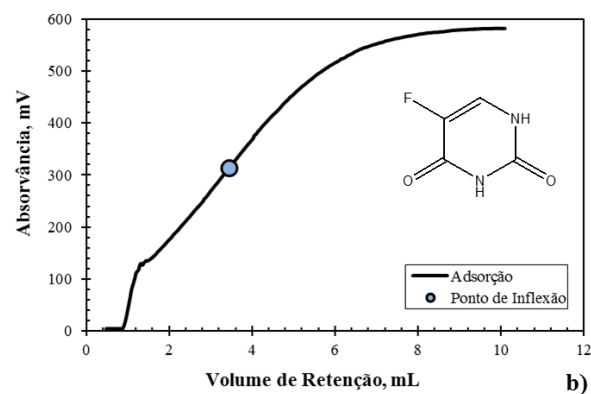
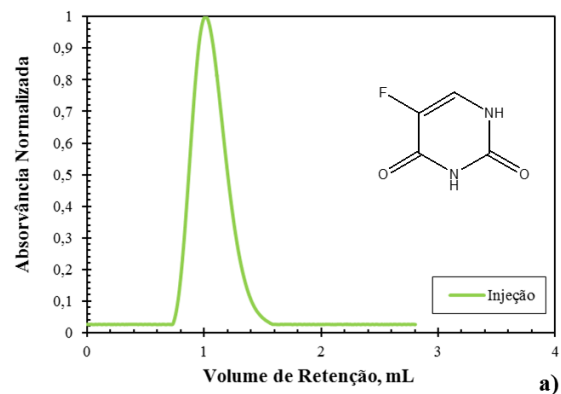
- a) Perfil de injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseados em AA+NIPA (IPN 6).
- b) Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- c) Perfil de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- d) Perfil de adsorção e dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- e) Perfil de adsorção, dessorção e injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).

**Anexo 57** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para a 3-APy em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=40$  °C,  $pH=10$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 15,6 mg de hidrogel seco.



- a)** Perfil de injeção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- b)** Perfil de adsorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- c)** Perfil de dessorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- d)** Perfil de adsorção e dessorção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- e)** Perfil de adsorção, dessorção e injeção para o 3-APy numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).

**Anexo 58** – Perfis da Injeção, Adsorção e Dessorção para o 5-FU em redes poliméricas interpenetrantes baseadas em AA+NIPA (IPN 6). Condições da Análise Frontal:  $C_0=0,1$  mM,  $T=40$  °C,  $pH=10$ ,  $Q=0,5$  mL/min e uma coluna contendo 15,2 mg de hidrogel seco.



- a) Perfil de injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseados em AA+NIPA (IPN 6).
- b) Perfil de adsorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- c) Perfil de dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- d) Perfil de adsorção e dessorção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).
- e) Perfil de adsorção, dessorção e injeção para o 5-FU numa coluna contendo hidrogel baseado em AA+NIPA (IPN 6).