

**Síntese e Teste de Hidrogéis Inteligentes para a Libertação Controlada  
de Fármacos**

**Rita Alexandra Santos da Costa**

Dissertação apresentada à  
**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**

Dezembro de 2013

*“Para vencer – material ou imaterialmente – três coisas definíveis são precisas: saber trabalhar, aproveitar oportunidade, e criar relações. O resto pertence ao elemento indefinível, mas real, a que, à falta de melhor nome, se chama sorte.”*

Fernando Pessoa

*“À minha Avó Ana”*

# Agradecimentos

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

Ao Engenheiro Miguel Gonçalves e à Engenheira Virgínia Pinto pela ajuda na execução da parte experimental, apoio, disponibilidade e orientação prestada no laboratório.

À Dra. Maria João do LPQ pela ajuda nas medições com espectroscopia UV.

Aos colegas José e Magda por toda a colaboração e apoio prestado no laboratório.

Aos meus amigos pelo apoio, palavras reconfortantes nos momentos mais difíceis ao longo da execução deste trabalho.

Ao departamento de química da ESTIG, pelas instalações e todo o material dispensado para a elaboração deste trabalho.

Finalmente, um especial obrigado aos meus pais, à minha irmã e ao Bruno pelo carinho, incentivo e alento que sempre me dispensaram.

# Resumo

Neste trabalho foram sintetizados hidrogéis inteligentes, sensíveis ao pH e à temperatura, tendo sido também realizados testes de libertação de quatro fármacos diferentes a partir dos materiais preparados.

Com o objetivo de estudar o efeito das condições de síntese sobre as propriedades e desempenho dos hidrogéis, foi feita a sua produção em suspensão inversa (a morfologia das partículas obtidas foi analisada por microscopia eletrônica de varrimento – SEM) e em solução. Foram considerados dois mecanismos diferentes de reação: polimerização radicalar clássica (FRP) e a polimerização por transferência de cadeia reversível por adição-fragmentação (RAFT).

Usando diferentes combinações dos monómeros de partida, foram sintetizados hidrogéis polielectrólitos de diferentes tipos, nomeadamente aniônicos, catiônicos e anfotéricos e também hidrogéis não iônicos. Foi observada a efetiva sensibilidade dos materiais obtidos à variação das condições envolventes, nomeadamente variações no pH de soluções aquosas, temperatura, força iônica ou presença de solvente desidratante. Demonstrou-se assim a possibilidade de fazer transitar os hidrogéis entre estados de inchamento/colapso em consequência da alteração de parâmetros pré-definidos.

As propriedades únicas destes materiais foram exploradas na libertação estimulada de fármacos, nomeadamente de 5-fluoruracilo (usado no tratamento do cancro), ibuprofeno (anti-inflamatório/analgésico), isoniazida (usada no tratamento da tuberculose) e cafeína (atuador do sistema nervoso central). As dinâmicas de libertação dos fármacos foram medidas experimentalmente através de espectroscopia de ultravioleta. Neste contexto, foram consideradas diferentes combinações hidrogel/estímulo/fármaco tendo em vista a procura de condições que possam potenciar os processos de libertação. Fez-se também uma descrição mecanicista simples da dinâmica de libertação dos fármacos, considerando para esse efeito modelos matemáticos alternativos (modelo exponencial e lei de potência).

Esta investigação procura contribuir para o desenvolvimento de ferramentas que possam ser usadas no projeto de condições de síntese, visando a produção de materiais avançados com propriedades por medida e com aplicações em biomedicina.

**Palavras-chave:** Hidrogéis, Estímulos, Libertação, Fármacos

# Abstract

This work was devoted to the synthesis of smart hydrogels with sensitivity to pH and temperature. Considering four different drugs, these advanced materials were also tested for drug delivery purposes.

Aiming the study of the effect of the synthesis conditions on the properties and performance of the hydrogels, these materials were produced using inverse-suspension polymerization (the morphology of the obtained particles was analyzed by Scanning Electronic Microscopy - SEM) and also considering solution polymerization. Two different polymerization mechanisms were also considered: classical free radical polymerization (FRP) and Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer (RAFT) polymerization.

By using different combinations of the initial monomers, different kinds of polyelectrolyte hydrogels were synthesized, namely anionic, cationic and amphoteric. Non-ionic hydrogels were also produced. It was observed that the materials produced are effectively sensitive to changes in the surrounding conditions, namely changes in pH of aqueous solutions, temperature, ionic strength and the presence of a dehydrating solvent. It was thus showed the ability to trigger the transition of hydrogels between swollen/shrunken states as a result of the change of pre-defined parameters.

The unique properties of these materials were explored in the stimulated release of drugs, namely 5-fluorouracil (used in cancer treatment), ibuprofen (anti-inflammatory/analgesic), isonicotinic acid (used in tuberculosis treatment) and caffeine (stimulant of the central nervous system). The dynamics of release of these drugs were experimentally measured using ultraviolet spectroscopy. In the framework of these studies, different combinations between hydrogel/stimuli/drug were considered, aiming the search of conditions enhancing the drug release processes. A simple mechanistic description of the dynamics of drug release was also performed considering two alternative mathematical models (exponential and power laws).

This research aims to contribute to the development of tools that can be used in the designs of synthesis conditions useful in the production of advanced materials with tailored properties that find applications in biomedicine.

**Keywords:** Hydrogels, Stimuli, Release, Drugs

# Índice

Agradecimentos .....	III
Resumo .....	IV
Abstract.....	V
Lista de Abreviaturas.....	X
Índice de Figuras .....	XIV
Índice de Tabelas .....	XXXI
Capítulo 1 – Introdução .....	1
1.1. Motivação .....	1
1.2. Objetivos.....	2
1.3. Limitações e Soluções Adotadas .....	3
1.4. Organização dos Capítulos .....	4
Capítulo 2 – Fundamentação Teórica.....	5
2.1. Introdução .....	5
2.2. Hidrogéis.....	5
2.2.1. Tipos de Hidrogéis Sensíveis ao pH .....	6
2.2.1.1. Hidrogéis Iónicos .....	7
2.2.1.1.1. Hidrogéis Aniónicos.....	7
2.2.1.1.2. Hidrogéis Catiónicos .....	9
2.2.1.1.3. Hidrogéis Anfotéricos .....	10
2.2.1.2. Hidrogéis Não Iónicos.....	11
2.2.2. Tipos de Hidrogéis Sensíveis à Temperatura .....	11
2.2.2.1. Hidrogéis Termosensíveis Negativos.....	12
2.2.2.2. Hidrogéis Termosensíveis Positivos .....	12
2.2.3. Hidrogéis Termoreversíveis .....	13
2.2.4. Hidrogéis Sensíveis a Forças Iónicas .....	13

2.3.	Administração de Fármacos.....	14
2.3.1.	Administração Cutânea.....	16
2.3.2.	Administração Parental: Via Subcutânea .....	16
2.3.3.	Administração por Via Gastrointestinal .....	16
2.4.	Libertação Controlada de Fármacos .....	17
2.4.1.	Mecanismos de Libertação Controlada .....	18
2.4.1.1.	Mecanismo de Libertação por Difusão .....	19
2.4.1.2.	Mecanismo de Libertação por Inchamento da Estrutura Polimérica	19
2.5.	Fármacos .....	20
2.5.1.	Cafeína.....	21
2.5.2.	Ibuprofeno .....	21
2.5.3.	Isoniazida.....	22
2.5.4.	5-Fluoruracilo .....	23
2.6.	Reações de Polimerização- conceitos genéricos.....	24
2.6.1.	Polimerização Radicalar Clássica (FRP).....	24
2.6.2.	Polimerização via Transferência de Cadeia Reversível por Adição- Fragmentação (RAFT) .....	26
2.7.	Polimerização em Suspensão Inversa .....	27
2.8.	Breve Visão de Estudos Anteriores Com Hidrogéis Inteligentes .....	28
Capítulo 3 – Síntese de Hidrogéis em Suspensão Inversa e em Solução .....		31
3.1.	Introdução .....	31
3.2.	Materiais .....	31
3.3.	Síntese de Hidrogéis em Suspensão Inversa.....	32
3.3.1.	Procedimento Experimental .....	36
3.3.2.	Análise por SEM das Partículas de Hidrogel Obtidas por Suspensão Inversa.....	38
3.4.	Síntese de Hidrogéis em Solução.....	40
Capítulo 4 – Testes de Caracterização da Sensibilidade dos Hidrogéis.....		43

4.1. Introdução .....	43
4.2. Materiais .....	45
4.3. Procedimento Experimental.....	45
4.3.1. Sensibilidade de Equilíbrio dos Hidrogéis à Variação da Temperatura.....	46
4.3.2. Sensibilidade Dinâmica dos Hidrogéis à Variação da Temperatura .....	50
4.3.3. Sensibilidade de Equilíbrio dos Hidrogéis à Variação Simultânea do pH e da Temperatura .....	50
4.3.4. Sensibilidade de Equilíbrio dos Hidrogéis à Variação do pH a Temperatura Constante (T=25 °C) .....	51
4.3.5. Sensibilidade de Equilíbrio dos Hidrogéis à Variação do pH a Temperatura Constante (T=37 °C) .....	55
4.3.6. Dinâmica de Inchamento dos Hidrogéis em Água Desionizada .....	56
4.3.7. Dinâmica de Inchamento em Água Desionizada e Colapso em Acetona .....	58
4.3.8. Efeito da Força Iônica Sobre a Dinâmica de Inchamento/Contração de Hidrogéis .....	60
Capítulo 5 – Testes de Libertação Controlada de Fármacos .....	64
5.1. Introdução .....	64
5.2. Materiais .....	65
5.3. Cromatografia de Exclusão de Tamanhos .....	66
5.4. Curvas de Calibração dos Fármacos .....	67
5.5. Processo de Incubação dos Fármacos .....	68
5.5.1. Filtração e Secagem do Hidrogel Incubado .....	69
5.5.2. Estimativa da Quantidade de Fármaco Incubada .....	69
5.6. Testes de Libertação Controlada.....	72
5.7. Processo de Recuperação dos Hidrogéis .....	76
5.8. Modelos de Ajuste dos Dados Experimentais .....	77
5.9. Resultados de Libertação de Fármacos.....	81

5.9.1. Liberação de Fármacos a partir de Hidrogéis Sintetizados por Suspensão Inversa .....	81
5.9.2. Liberação de Fármacos a partir de Hidrogéis Sintetizados em Solução .....	88
5.9.3. Comparação do Desempenho de Hidrogéis FRP-RAFT.....	93
Capítulo 6-Conclusões e Trabalhos Futuros.....	96
Referências Bibliográficas.....	102

# Lista de Abreviaturas

AA: Ácido Acrílico

AAm: Acrilamida

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

APS: Persulfato de Amónio

CAF: Cafeína

CAT: Catalizador

CDT: Cyanomethyl dodecyl trithiocarbonate

$C_{EQ}(t)$ : Concentração de equilíbrio

CH: Ciclohexano

$CHS(t)$ : Quantidade de fármaco libertada por unidade de massa de hidrogel seco (mg/g) até ao instante  $t$

$C_M$ : Concentração de monómeros

$C_{MAX}$ : Estimativa da concentração máxima de fármaco na solução aquosa (mg/g) que se espera observar num dado teste de libertação

CPA: 4-Cyano-4- (Phenylcarbonothioylthio) pentanoic acid

CR: Reticulante

CRP: Polimerizações Radicales Controladas

$C(t)$ : Concentração efetiva de fármaco (mg/g) medida por UV na solução aquosa no instante de libertação  $t$

$C_{UV}$ : Concentração do fármaco na solução remanescente, medida por UV após incubação (mg/g)

$C_0$ : Estimativa da concentração de fármaco no hidrogel (mg/g) usando o método de carregamento A

$C_1$ : Estimativa da concentração de fármaco no hidrogel (mg/g) usando o método de carregamento B e baseada no seu grau de inchamento

$C_2$ : Estimativa da concentração de fármaco no hidrogel (mg/g) usando o método de carregamento B e baseada na análise UV da solução remanescente

DDMAT: 2- (Dodecylthiocarbonothioylthio)-2-methylpropionic acid

DMA: Dimetilacrilamida

DMAEMA: (2-dimetilaminoetil) metacrilato

DNA: Ácido Desoxirribonucléico

EGDMA: Dimetacrilato de Elilenoglicol  
FRP: Polimerização Radicalar Clássica  
GPC: Cromatografia de Permeação em Gel  
HG: Hidrogel sintetizado em suspensão inversa  
HGS: Hidrogel sintetizado em solução  
HQ: Hidroquinona  
I: Iniciador  
IBU: Ibuprofeno  
INH: Isoniazida  
LCST: Temperatura de Solução Crítica Inferior  
MAA: Ácido Metacrílico  
MBAm: N, N'-metileno-bis-acrilamida  
 $m_{CAT}$ : Massa de catalisador  
 $m_e$ : Massa de estabilizador  
 $m_{HS}$ : Massa (g) de hidrogel incubado seco usada no teste de libertação  
 $m_I$ : Massa de iniciador  
 $m_M$ : Massa de monómeros  
 $m_{ORG}$ : Massa da fase orgânica  
 $m_S$ : Massa de solvente  
 $m_{SA}$ : Quantidade de solução (mg) usada no teste de libertação  
 $m_{SH}$ : Massa de hidrogel inchado (g)  
 $m_{WAT}$ : Massa de água remanescente recolhida após a incubação (g)  
M1: Monómero 1  
M2: Monómero 2  
 $m_1$ : Massa de hidrogel usada no processo de incubação  
 $m_2$ : Massa de água usada no processo de incubação  
 $m_3$ : Massa de fármaco usada no processo de incubação  
 $n_A$ : Número de moles de grupos ácido do monómero  
 $n_{CR}$ : Número de moles do reticulante  
 $n_I$ : Número de moles do iniciador  
NIPA: N-isopropilacrilamida  
 $n_{M1}$ : Número de moles de M1  
 $n_{M2}$ : Número de moles de M2  
 $n_N$ : Número de moles da base

$n_{\text{RAFT}}$ : Número de moles do agente RAFT  
NVP: Vinilpirrolidona  
PAA: Poli (ácido acrílico)  
PAAm: Poli (acrilamida)  
PBAA: Poli (butil ácido acrílico)  
PDMA: Poli (dimetil acrilamida)  
PDMAEMA: Poli ((2-dimetilaminoetil) metacrilato)  
PEAA: Poli (etil ácido acrílico)  
PEG: Poli (etilenoglicol)  
PMAA: Poli (ácido metacrílico)  
PNIPA: Poli (N-isopropilacrilamida)  
PNVP: Poli (1-Vinil-2-pirrolidona)  
PPAA: Poli (propil ácido acrílico)  
PVA: Poli (álcool vinílico)  
PVPI: Poli (vinilpiridina)  
RAFT: Polimerização via Transferência de Cadeia Reversível por Adição-Fragmentação  
 $r_{\text{CAT}}$ : Razão entre  $m_I$  e  $m_{\text{CAT}}$   
 $r_{\text{RAFT}}$ : Razão molar entre agente RAFT e iniciador  
SEC: Cromatografia de Exclusão de Tamanhos  
SEM: Microscopia Eletrônica de Varrimento  
SLC: Sistema de libertação controlada  
SPAN 80: Sorbitan Monooleate  
SR: Razão de inchamento  
S/O ou  $r_S$ : Razão entre a massa de estabilizador e de fase orgânica  
T: Temperatura.  
TAO: 1,1,2,2 – Tetraallyloxyethane  
TEMED: N,N,N,N' – tetrametilenodiamina  
TMPTA: Triacrilato de Trimetilpropano  
UCST: Temperatura de Solução Crítica Superior  
UV: Ultravioleta  
 $V_A$ : Volume da fase aquosa  
VCL: N- vinilcaprolactama  
 $V_{\text{ORG}}$ : Volume do solvente orgânico

V50: 2, 2'-azobis (2-Methylpropionamide) dihydrochloride

$W_{DI}$ : Água desionizada

W/O ou  $r_V$ : Razão volumétrica entre fase aquosa e solvente orgânico

5-FU: 5-Fluoruracilo

$\alpha_{M1}$ : Razão molar de M1 na mistura M1+M2

$\alpha_{CR}$ : Razão molar do reticulante relativamente à mistura M1+M2

$\alpha_I$ : Razão molar do iniciador relativamente à mistura M1+M2

$\alpha_{MAX}(t)$ : Fração de fármaco libertada até ao instante  $t$ , tomando como referência uma estimativa para a concentração máxima esperada

$\alpha_N$ : Fração molar de grupos ácido do monómero que são neutralizados com a base

$\alpha_{NOR}(t)$ : Fração de fármaco libertada até ao instante  $t$ , tomando como referência o máximo de concentração observado nesse teste

# Índice de Figuras

Figura 1: Exemplos de estruturas químicas de base de hidrogéis aniônicos (representam-se aqui apenas os análogos lineares).....	7
Figura 2: Representação esquemática do comportamento esperado para um hidrogel aniônico em meio ácido (contração da rede de polímero).....	8
Figura 3: Representação esquemática do comportamento esperado para um hidrogel aniônico em meio alcalino (inchamento da rede de polímero).....	8
Figura 4: Esquema ilustrativo do comportamento esperado para um hidrogel aniônico sensível ao pH, no estômago (meio ácido) e no intestino (meio alcalino) [adaptado de 19]. .....	8
Figura 5: Representação esquemática do comportamento esperado para um hidrogel catiónico em meio alcalino (contração da rede de polímero).....	9
Figura 6: Representação esquemática do comportamento esperado para um hidrogel catiónico em meio ácido (inchamento da rede de polímero).....	9
Figura 7: Exemplos de estruturas químicas de base de hidrogéis catiónicos (representam-se aqui apenas os análogos lineares). a) PDMAEMA. b) PVPI.....	10
Figura 8: Esquema comparativo do comportamento de hidrogéis aniônicos e catiónicos em soluções aquosas ácidas e alcalinas [20]. .....	10
Figura 9: Estrutura química do polímero anfotérico resultante da copolimerização de MAA com DMAEMA.....	10
Figura 10: Estrutura química do polímero não iônico (neutro) resultante da polimerização de NVP.....	11
Figura 11: Estrutura química do polímero não iônico (neutro) resultante da polimerização de VCL.....	11
Figura 12: Esquema ilustrativo do comportamento reversível idealmente esperado para hidrogéis termosensíveis negativos com o aquecimento e o arrefecimento da solução aquosa que os contém. ....	12
Figura 13: Estrutura química do polímero sensível à temperatura resultante da polimerização de NIPA. ....	12
Figura 14: Estrutura química do polímero sensível à temperatura resultante da polimerização de DMA. ....	12

Figura 15: Esquema ilustrativo do comportamento idealmente esperado para hidrogéis iônicos em solução aquosa com adição de um sal (ex. NaCl). A eventual libertação de um fármaco pode ser promovida quando o hidrogel se encontra contraído, por ação do aumento da força iónica.....	13
Figura 16: Esquemática dos níveis séricos observados com a administração convencional de fármacos [adaptado de 28].....	15
Figura 17: Perfis típicos da concentração de fármaco na corrente sanguínea em função do tempo. (a) administração convencional com diferentes doses e (b) libertação controlada [adaptado de 20]. .....	18
Figura 18: Representação esquemática do mecanismo de libertação de fármacos por difusão. ....	19
Figura 19: Representação esquemática do mecanismo de libertação de fármacos por inchamento da estrutura polimérica.....	20
Figura 20: Estruturas químicas dos fármacos usados neste trabalho: cafeína.....	21
Figura 21: Estruturas químicas dos fármacos usados neste trabalho: ibuprofeno.....	22
Figura 22: Estruturas químicas dos fármacos usados neste trabalho: isoniazida. ....	23
Figura 23: Estruturas químicas dos fármacos usados neste trabalho: 5-fluoruracilo. ....	23
Figura 24: Ilustração fotográfica do sistema de reação usado na síntese de hidrogéis por suspensão inversa. O uso de um agitador magnético permite criar/manter uma dispersão de fase aquosa na fase orgânica (fase contínua). Desta forma, são produzidas partículas de hidrogel mantendo-se a boa agitação do reator. O aumento significativo da viscosidade quando os hidrogéis equivalentes são sintetizados em solução impede a boa agitação do reator durante todo o processo. O difusor existente na instalação experimental foi usado para borbulhar um gás inerte (Azoto ou Árgon por exemplo) e desta forma manter o meio reacional isento de oxigénio (inibidor de polimerização)...	37
Figura 25: Ilustração fotográfica do processo de recolha de amostras com tempos de reação diferentes durante o processo de síntese de hidrogéis por suspensão inversa. A precipitação em metanol, acetona, por exemplo, e eventual aquecimento dos produtos de reação permite realizar o seu isolamento de forma simples (ver também Figura 26). ...	37
Figura 26: Ilustração fotográfica do processo de precipitação do hidrogel final obtido por polimerização em suspensão inversa. A precipitação da mistura reacional em solventes como acetona ou metanol permite facilmente isolar os produtos (neste caso na forma particulada) na grande maioria dos casos químicos diferentes aqui estudados. Para hidrogéis de NIPA, este processo é mais eficientemente realizado através da	

precipitação em solvente quente (ex. 50 °C) dado o colapso destes produtos por efeito do aumento da temperatura. Procedimentos semelhantes permitem isolar os hidrogéis produzidos em solução. ....	37
Figura 27: Ilustração fotográfica de um conjunto de amostras do meio reacional retiradas a diferentes tempos de polimerização. O processo de amostragem ao longo da polimerização é usado para obter medições cinéticas da formação de produtos (ex. através da injeção da fração solúvel em GPC). A comparação visual das amostras permite também avaliar de forma simples a quantidade de hidrogel formada em diferentes instantes de polimerização. ....	38
Figura 28: Micrografias SEM de partículas de diferentes hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. (a) e (b) são referentes a um hidrogel AA/MBAm. (c) é referente a um hidrogel NIPA/MBAm. (d) e (e) são referentes a um hidrogel NIPA/AA/MBAm. (f) é referente a um hidrogel DMA/MBAm. ....	39
Figura 29: Representação esquemática idealizada para a variação da razão de inchamento de hidrogéis aniônicos e catiónicos em soluções aquosas com diferentes valores de pH. É feita também a catalogação nessas duas famílias de alguns hidrogéis sintetizados neste trabalho. ....	44
Figura 30: Representação esquemática idealizada para a variação da razão de inchamento de hidrogéis termosensíveis em soluções aquosas com diferentes valores de temperatura. É feita também a catalogação nessa família de alguns hidrogéis sintetizados neste trabalho. ....	44
Figura 31: Representação esquemática da variação da razão de inchamento observada com hidrogéis potencialmente sensíveis em simultâneo ao pH e à temperatura. Para os hidrogéis sintetizados neste trabalho assinalados na figura foi observada uma muito maior sensibilidade ao pH comparativamente à temperatura. ....	44
Figura 32: Ilustração fotográfica de um teste típico de caracterização da sensibilidade de hidrogéis. O procedimento geral consiste na colocação de uma massa pré-pesada de hidrogel seco (ex. 0,2 g) numa solução aquosa (ex. 80 mL) com as condições de estímulo pretendidas (seleção da temperatura, pH, força iónica, etc.). A pesagem do hidrogel inchado, para determinação da razão de inchamento, a diferentes instantes de tempo pré-definidos permite obter a sensibilidade dinâmica do material nas condições selecionadas. A sensibilidade de equilíbrio é avaliada após um relativamente longo período de tempo (ex. 1 hora). A alteração das condições de estímulo permite avaliar a sensibilidade do material à variação dos parâmetros pretendidos. ....	46

Figura 33: Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG1 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.....	48
Figura 34: Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG2 (P (NIPA/AA)) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma baixa sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura. O inchamento do hidrogel é dominado pelo seu caráter aniônico, conferido pela presença de AA na sua estrutura.....	48
Figura 35: Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG5 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.....	48
Figura 36: Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG6 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.....	49
Figura 37: Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG7 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.....	49
Figura 38: Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG9 (PDMAEMA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma muito reduzida sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura. ....	49
Figura 39: Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG12 (PAA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma muito reduzida sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura. ....	49
Figura 40: Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma muito reduzida sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.....	49

Figura 41: Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG14 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.....	49
Figura 42: Variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG1 (PNIPA) observada a dois valores diferentes de temperatura ( $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Os resultados experimentais mostram uma rápida dinâmica de inchamento e uma elevada sensibilidade do hidrogel à temperatura. ....	50
Figura 43: Variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG7 (PNIPA) observada a dois valores diferentes de temperatura ( $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Os resultados experimentais mostram uma rápida dinâmica de inchamento e uma elevada sensibilidade do hidrogel à temperatura. ....	50
Figura 44: Variação com a temperatura da razão de inchamento do hidrogel HG2 (PNIPA/PAA) observada a dois valores diferentes de soluções de pH ( $\text{pH}=1,2$ e $\text{pH}=7,5$ ). Apesar do hidrogel incluir NIPA, estes resultados mostram uma muito maior sensibilidade do material ao pH comparativamente à temperatura. O efeito do monómero aniónico (AA) tem um carácter dominante sobre o inchamento do hidrogel.....	51
Figura 45: Variação com a temperatura da razão de inchamento do hidrogel HG3 (PNIPA/PMAA) observada a dois valores diferentes de soluções de pH ( $\text{pH}=1,2$ e $\text{pH}=7,5$ ). Apesar do hidrogel incluir NIPA, estes resultados mostram uma muito maior sensibilidade do material ao pH comparativamente à temperatura. O efeito do monómero (MAA) tem um carácter dominante sobre o inchamento do hidrogel.....	51
Figura 46: Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG4 (P (NIPA/MAA) observada à temperatura constante de $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel (parcialmente aniónico) à variação do pH. ....	53
Figura 47: Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG9 (PDMAEMA) observada à temperatura constante de $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel (catiónico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese FRP e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos FRP/RAFT). ....	54

Figura 48: Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG10 (PAA) observada à temperatura constante de T=25 °C. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel (aniônico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos, nomeadamente a comparação de produtos FRP/RAFT ou mesmo o uso de diferentes condições RAFT (comparar com HG12 na Figura 49)..... 54

Figura 49: Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG12 (PAA) observada à temperatura constante de T=25 °C. Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel (aniônico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos FRP/RAFT). ..... 54

Figura 50: Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) observada à temperatura constante de T=25 °C. Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel (anfotérico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos FRP/RAFT)..... 54

Figura 51: Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG4 (P (NIPA/MAA)) observada à temperatura constante de T=37 °C. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel (parcialmente aniônico) à variação do pH. .... 55

Figura 52: Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG12 (PAA) observada à temperatura constante de T=37 °C. Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel (aniônico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos (FRP/RAFT)..... 55

Figura 53: Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) observada à temperatura constante de T=37 °C. Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel (anfotérico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos (FRP/RAFT)).....	56
Figura 54: Dinâmica de inchamento de hidrogéis por efeito da água: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG1 (PNIPA) à temperatura de 20 °C. Os resultados experimentais mostram a rápida dinâmica de inchamento do hidrogel que ao fim de cerca de 10 min atinge o estado de equilíbrio. ....	57
Figura 55: Dinâmica de inchamento de hidrogéis por efeito da água: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG2 (P (NIPA/AA)) à temperatura de 20 °C. Os resultados experimentais mostram a rápida dinâmica de inchamento do hidrogel que ao fim de cerca de 10 min atinge o estado de equilíbrio. ....	57
Figura 56: Dinâmica de inchamento de hidrogéis por efeito da água: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG12 (PAA) à temperatura de 20 °C. Os resultados experimentais mostram também o rápido inchamento do hidrogel mas uma razão de inchamento de equilíbrio relativamente baixa. Note-se que este hidrogel de PAA foi obtido por polimerização RAFT, o que demonstra o efeito das condições de síntese nas propriedades dos materiais, nomeadamente quando se comparam as técnicas FRP/RAFT.....	57
Figura 57: Dinâmica de inchamento de hidrogéis por efeito da água: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) à temperatura de 20 °C. Os resultados experimentais mostram também o rápido inchamento do hidrogel mas uma razão de inchamento de equilíbrio relativamente baixa. Note-se que este hidrogel de P (DMAEMA/MAA) foi obtido por polimerização RAFT, o que demonstra o efeito das condições de síntese nas propriedades dos materiais, nomeadamente quando se comparam as técnicas FRP/RAFT. ....	57
Figura 58: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG1 (PNIPA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.....	59

Figura 59: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG8 (PDMAEMA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.....	59
Figura 60: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG9 (PDMAEMA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.....	59
Figura 61: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG10 (PAA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.....	59
Figura 62: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG12 (PAA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.....	59
Figura 63: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG13 (P(DMAEMA/MAA)) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.....	59
Figura 64: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG17 (PNVP) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.....	60
Figura 65: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG19 (PDMA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.....	60
Figura 66: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG20 (PAAm) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.....	60
Figura 67: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iônica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG1 (PNIPA) em água	

desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.....	62
Figura 68: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG8 (PDMAEMA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.....	62
Figura 69: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG9 (PDMAEMA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.....	62
Figura 70: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG10 (PAA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,15 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.....	62
Figura 71: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG10 (PAA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,3 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.....	62
Figura 72: Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG10 (PAA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.....	62
Figura 73: Dinâmica de inchamento/ contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG12 (PAA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.....	63
Figura 74: Dinâmica de inchamento/ contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.....	63
Figura 75: Dinâmica de inchamento/ contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG17 (PNVP) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.....	63

Figura 76: Dinâmica de inchamento/ contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG19 (PDMA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel..... 63

Figura 77: Esquema simplificado representando um sistema típico de GPC [adaptado de 70]. ..... 66

Figura 78: Curva de Calibração da Cafeína obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) usando comprimento de onda  $\lambda=265$  nm. A calibração aqui apresentada refere-se à análise dos fármacos por GPC (modo *aberto*). Nos anexos Y, Z, AA e BB apresentam-se as calibrações correspondentes à espectroscopia UV dos fármacos em modo *fechado* (comparação da amostra com  $W_{DI}$ ). ..... 67

Figura 79: Curva de Calibração da Isoniazida obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) usando comprimento de onda  $\lambda=265$  nm. A calibração aqui apresentada refere-se à análise dos fármacos por GPC (modo *aberto*). Nos anexos Y, Z, AA e BB apresentam-se as calibrações correspondentes à espectroscopia UV dos fármacos em modo *fechado* (comparação da amostra com  $W_{DI}$ ). ..... 67

Figura 80: Curva de Calibração do 5-Fluoruracilo obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) usando comprimento de onda  $\lambda=265$  nm. A calibração aqui apresentada refere-se à análise dos fármacos por GPC (modo *aberto*). Nos anexos Y, Z, AA e BB apresentam-se as calibrações correspondentes à espectroscopia UV dos fármacos em modo *fechado* (comparação da amostra com  $W_{DI}$ ). ..... 68

Figura 81: Ilustração do processo de incubação de um hidrogel com um fármaco. Neste caso específico usaram-se ~0,40 g de HG4, ~185 mg de cafeína em ~80 mL de água desionizada no processo de incubação (ver Tabelas 4 e 5 para obter detalhes sobre este e outros processos de incubação). No processo de carregamento, os hidrogéis foram mantidos em solução de fármaco à temperatura ambiente durante pelo menos 48 horas. .... 68

Figura 82: Aspeto morfológico de um hidrogel (HG4 é aqui usado como exemplo) carregado com um fármaco (cafeína neste caso específico), depois da filtração e recolha do material inchado. Os hidrogéis incubados foram posteriormente sujeitos a secagem em estufa de vácuo. Neste trabalho usaram-se dois métodos diferentes de incubação de hidrogéis: método A em que não se realizou o processo de filtração da  $W_{DI}$  presente (secagem direta da solução) e método B com secagem após filtração (conforme atrás detalhado). Com o método de carregamento de fármaco B são incubadas quantidades

mais baixas comparativamente ao método A. No entanto, no último caso, uma parte substancial do fármaco poderá estar alojada na superfície do hidrogel, conduzindo à sua passagem rápida para a fase líquida aquando da colocação do hidrogel em solução..... 69

Figura 83: Ilustração fotográfica de um conjunto de frascos contendo hidrogel incubado com fármaco (no caso HG3/cafeína) para posterior utilização em testes de libertação controlada. Cada frasco correspondente a um tempo de libertação pré-estabelecido. A realização do processo de libertação é feita através da adição de solução aquosa nas condições do estímulo selecionado (ex.  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$ ). Condições típicas do teste de libertação em cada tempo selecionado (ver também Tabela 4):  $\sim 0,005\text{ g}$  de hidrogel incubado + 10 mL de solução aquosa. Se necessário (ex. para garantir temperatura constante ao longo do tempo), os frascos são colocados num banho termostático. .... 74

Figura 84: Ilustração fotográfica de testes de libertação controlada de fármacos realizados considerando diferentes estímulos (ex.  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Condições típicas dos testes de libertação em cada tempo selecionado (ver também Tabela 4):  $\sim 0,005\text{ g}$  de hidrogel + 10 mL solução aquosa nas condições do estímulo considerado. O processo de filtração da amostra recolhida para posterior injeção no GPC é um aspeto importante, conforme abaixo discutido. .... 75

Figura 85: Ilustração fotográfica do processo de recolha de uma amostra ( $\sim 2\text{ mL}$ ) relativa ao estudo da libertação de um fármaco a partir de um hidrogel sintetizado por suspensão inversa. Condições típicas do teste de libertação em cada tempo selecionado (ver também Tabela 4):  $\sim 0,005\text{ g}$  de hidrogel + 10 mL solução aquosa nas condições do estímulo considerado (ex.  $\text{pH}=7,5$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). .... 75

Figura 86: Filtração de amostra recolhida no processo de libertação de um fármaco ( $\sim 2\text{ mL}$ ) para posterior análise em modo de GPC (*modo aberto* como ilustrado na Figura 87). A utilização de filtros é nestes sistemas bastante importante para impedir que partículas de hidrogel sejam injetadas no sistema de GPC (foram utilizados filtros da marca Whatman com membrana de celulose, ideais para sistemas aquosos, e com porosidade de 0,45 micron). .... 75

Figura 87: Ilustração fotográfica do equipamento de GPC utilizado para a análise dos produtos das polimerizações e na medição das quantidades de fármaco libertadas ao longo do tempo (mostra-se aqui apenas o módulo de bombagem do eluente que em geral consistiu em água com azida). Neste trabalho, a quantificação das concentrações de fármacos foi feita através de espectroscopia UV considerando duas abordagens experimentais diferentes: o *modo aberto* em que se monitoriza o pico de fármaco no

sistema de GPC (representado nesta figura) e o *modo fechado* em que a absorção UV global das amostras é medida por comparação com a absorção da  $W_{DI}$  pura. .... 76

Figura 88: Valores observados para a libertação de cafeína ao longo do tempo a partir do hidrogel HG7 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  (Teste 1 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 83

Figura 89: Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua libertação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG7 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  (Teste 1 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 83

Figura 90: Valores observados para a libertação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 2 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 84

Figura 91: Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua libertação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 2 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 84

Figura 92: Valores observados para a libertação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG3 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 3 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 84

Figura 93: Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua libertação ao longo do tempo a partir do

hidrogel HG3 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 3 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 84

Figura 94: Valores observados para a libertação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG5 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  (Teste 4 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 85

Figura 95: Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua libertação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG5 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  (Teste 4 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 85

Figura 96: Valores observados para a libertação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG6 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  (Teste 5 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 85

Figura 97: Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua libertação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG6 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{água desionizada}$  (Teste 5 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 85

Figura 98: Valores observados para a libertação ao longo do tempo de 5-FU a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 6 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de 5-FU nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 86

Figura 99: Valores observados para a concentração normalizada de 5-FU (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 6 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de 5-FU nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 86

Figura 100: Valores observados para a liberação ao longo do tempo de INH a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 7 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de INH nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 86

Figura 101: Valores observados para a concentração normalizada de INH (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 7 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de INH nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 86

Figura 102: Valores observados para a liberação ao longo do tempo de 5-FU a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 8 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de 5-FU nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 87

Figura 103: Valores observados para a concentração normalizada de 5-FU (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 8 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de 5-FU nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. .... 87

Figura 104: Valores observados para a liberação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 9 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de Cafeína nas soluções aquosas foram

obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação das partículas A. ....	87
Figura 105: Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a T=37 °C/pH=1,2 e T=22 °C/pH=7,5 (Teste 9 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de Cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação das partículas A. ....	87
Figura 106: Valores observados para a liberação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a T=37 °C/pH=1,2 e T=22 °C/pH=7,5 (Teste 10 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação das partículas B. ....	88
Figura 107: Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a T=37 °C/pH=1,2 e T=22 °C/pH=7,5 (Teste 10 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação das partículas B. ....	88
Figura 108: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel de AA (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B. ....	90
Figura 109: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel de AA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B. ....	90
Figura 110: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel HGS6 de DMAEMA/MAA/FRP (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8.	

Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	91
Figura 111: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel HGS7 de DMAEMA/MAA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	91
Figura 112: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel de DMAEMA (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	91
Figura 113: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel de DMAEMA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	91
Figura 114: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel HGS1 de NIPA (Tabela 6) colocado em soluções aquosas a T=25 °C e T=37 °C. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	92
Figura 115: Comparação da fração de CAF libertada a partir de um hidrogel HGS6 de DMAEMA/MAA/FRP (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	92
Figura 116: Comparação da fração de CAF libertada a partir de um hidrogel HGS7 de DMAEMA/MAA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	92
Figura 117: Comparação da fração de IBU libertada a partir de um hidrogel HGS6 de DMAEMA/MAA/FRP (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	92
Figura 118: Comparação da fração de IBU libertada a partir de um hidrogel HGS7 de DMAEMA/MAA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	92

Figura 119: Comparação da fração de INH libertada a partir de um hidrogel HGS4 de AA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	92
Figura 120: Comparação da fração de INH libertada a partir de um hidrogel HGS6 de DMAEMA/MAA/FRP (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	93
Figura 121: Comparação da fração de INH libertada a partir de um hidrogel HGS7 de DMAEMA/MAA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	93
Figura 122: Comparação da fração de INH libertada a partir de um hidrogel HGS5 de DMAEMA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.....	93
Figura 123: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de hidrogéis de AA com síntese FRP (HGS2) e RAFT (HGS4) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=10.....	95
Figura 124: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA com síntese FRP (HGS3) e RAFT (HGS5) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=10.....	95
Figura 125: Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA/MAA com síntese FRP (HGS6) e RAFT (HGS7) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=8.....	95
Figura 126: Comparação da fração de CAF libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA/MAA com síntese FRP (HGS6) e RAFT (HGS7) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=8.....	95
Figura 127: Comparação da fração de IBU libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA/MAA com síntese FRP (HGS6) e RAFT (HGS7) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=8.....	95
Figura 128: Comparação da fração de INH libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA/MAA com síntese FRP (HGS6) e RAFT (HGS7) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=8.....	95

# Índice de Tabelas

Tabela 1: Descrição de alguns trabalhos de investigação sobre hidrogéis inteligentes..	29
Tabela 2: Condições utilizadas na síntese em suspensão inversa de hidrogéis inteligentes.....	41
Tabela 3: Condições utilizadas na síntese em solução de hidrogéis inteligentes.....	42
Tabela 4: Resumo dos testes de libertação controlada realizados com hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. ....	78
Tabela 5: Dados para comparação do processo de incubação de fármacos através da quantificação do inchamento do hidrogel ou da análise UV da solução aquosa remanescente. Nesta análise foram apenas considerados hidrogéis sintetizados em solução. ....	79
Tabela 6: Descrição dos testes de libertação realizados combinando diferentes fármacos com diferentes hidrogéis sintetizados em solução.....	80

# Capítulo 1 – Introdução

## 1.1. Motivação

A investigação aqui desenvolvida é motivada pelas potenciais aplicações biomédicas dos hidrogéis inteligentes que nas últimas décadas têm sido alvo de inúmeros estudos a este nível. Estes materiais têm adquirido uma elevada importância numa vasta gama de aplicações, nomeadamente a nível médico, farmacêutico e áreas afins, por exemplo, em compressas utilizadas em ferimentos, em lentes de contacto, órgãos artificiais e em sistemas de libertação de fármacos [1,2].

Sob o ponto de vista biomédico, os sistemas de libertação de fármacos mais importantes são aqueles que possuem sensibilidade à temperatura e/ou ao pH do meio envolvente. Isto é explicado pelo facto do corpo humano apresentar variações de pH ao longo do trato gastrointestinal, assim como, em determinadas áreas específicas, como certos tecidos (zonas tumorais) e compartimentos subcelulares. Uma das localizações mais interessantes e vantajosas para a aplicação dos sistemas de libertação controlada de fármacos é o cólon, visto que doenças como o cancro colorretal, doença de *Crohn* e síndrome do cólon irritável teriam um tratamento mais eficiente caso os fármacos fossem libertados diretamente no cólon. Muitas razões justificam a adoção de sistemas de libertação controlada de fármacos no colón, nomeadamente o facto de formas de administração oral se mostrarem ineficazes, uma vez que não protegem a libertação do fármaco no estômago e intestino delgado, sendo mesmo absorvido ou degradado nesses locais [3].

Este trabalho debruça-se sobre a síntese, caracterização e teste na libertação controlada de fármacos a partir de diferentes tipos de hidrogéis inteligentes. São produzidas em laboratório redes de polímero com sensibilidade à variação da temperatura e pH do seu meio envolvente (soluções aquosas) e cuja arquitetura molecular é dependente do seu processo de síntese. A variação da razão de inchamento dos materiais produzidos em função de parâmetros críticos para aplicações biológicas (temperatura, pH, força iónica) é também realizada em laboratório. O teste dos hidrogéis inteligentes é feito através do carregamento e libertação de quatro fármacos modelo diferentes considerando também diferentes estímulos (ex. variação de pH/temperatura).

Para realizar os testes de libertação, foram selecionados fármacos efetivamente usados em medicina, nomeadamente 5-fluoruracilo, isoniazida, cafeína e ibuprofeno. O 5-fluoruracilo (5-FU) é utilizado no tratamento de diversos carcinomas. A isoniazida (INH) tem um elevado interesse uma vez que se trata de um dos fármacos com maior utilização em esquemas terapêuticos de tratamento e de profilaxia da tuberculose. Note-se que a tuberculose, doença causada pelo microrganismo *mycobacterium tuberculosis* tem acompanhado a existência do homem na terra e é nos dias de hoje um grave problema de saúde pública [4]. Por outro lado, a cafeína (CAF) e o ibuprofeno (IBU) são fármacos de uso comum, nomeadamente como estimulante do sistema nervoso central (cafeína) e como anti-inflamatório/analgésico (ibuprofeno).

## 1.2. Objetivos

A investigação realizada neste trabalho visa contribuir para a compreensão da relação entre o processo de síntese de hidrogéis inteligentes, as suas propriedades, nomeadamente a possibilidade de serem estimulados através de alterações das suas condições envolventes e o desempenho destes materiais na libertação de fármacos. Para este efeito, são sintetizados diferentes tipos de hidrogéis, nomeadamente iónicos, anfotéricos, neutros e sensíveis à temperatura. A composição inicial das polimerizações (ex. tipos e quantidades dos monómeros usados) é projetada de forma a tentar condicionar a estrutura/propriedades dos hidrogéis sintetizados. A morfologia dos produtos é também alterada considerando polimerização em suspensão inversa (obtenção de micropartículas de hidrogel) e polimerização em solução (formação de hidrogel em massa contínua). São também usados dois mecanismos diferentes de polimerização, nomeadamente a polimerização radicalar clássica (FRP) e a polimerização via transferência de cadeia reversível por adição-fragmentação (RAFT). Pretende-se desta forma avaliar o efeito do mecanismo de polimerização na estrutura, propriedades e desempenho dos hidrogéis, em concreto como sistemas de libertação controlada de fármacos. A razão de inchamento (SR) dos hidrogéis produzidos, quando colocados em soluções aquosas, é medida considerando diferentes condições envolventes, nomeadamente de temperatura, pH e força iónica. Pretende-se desta forma mostrar que os hidrogéis sintetizados podem efetivamente ser estimulados e também avaliar o diferente impacto (quantificado através da razão de inchamento) desses

estímulos em redes de polímero com arquiteturas moleculares distintas. Estes estudos visam também selecionar os hidrogéis que apresentam maior capacidade para serem estimulados e à partida com maiores potencialidades na libertação controlada de fármacos. A terceira linha de ação desta investigação tem como objetivo a medição da dinâmica de libertação dos quatro fármacos considerados a partir de hidrogéis inteligentes, quando sujeitos a diferentes estímulos. Numa primeira fase é feito o carregamento do fármaco na matriz dos hidrogéis e posteriormente promovida a sua transferência para soluções aquosas que tentam recrear meios biológicos (ex. suco gastrointestinal). A concentração de fármacos nas soluções aquosas é monitorizada ao longo do tempo usando espectroscopia de UV.

No final, espera-se contribuir para o aprofundamento do conhecimento acerca dos hidrogéis inteligentes e das suas potencialidades como meios de libertação controlada com aplicações em processos biológicos e em medicina. Em especial, procura-se desenvolver linhas de ligação entre as condições de síntese, as propriedades e o desempenho destes materiais avançados. Estes desenvolvimentos poderão auxiliar na criação de ferramentas que permitam projetar condições de síntese para a produção de hidrogéis com propriedades por medida.

### **1.3. Limitações e Soluções Adotadas**

A baixa solubilidade do ibuprofeno puro em água foi uma das dificuldades experimentais identificadas na realização deste trabalho. Este facto foi ultrapassado gerando um sal de sódio de ibuprofeno através da reação deste fármaco com NaOH. Este sal apresenta uma elevada solubilidade em solução aquosa e foi usado nos testes de libertação de fármacos a partir de hidrogéis. Os resultados da dinâmica de libertação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa (micropartículas) apresentam, na maioria dos testes, uma elevada dispersão. Este facto deverá estar relacionado com dificuldades experimentais associadas ao manuseamento dessas micropartículas. De facto, os testes realizados com hidrogéis sintetizados em solução (massa contínua) mostram que é possível obter medições das dinâmicas de libertação com baixa dispersão. Foram também enfrentadas dificuldades na quantificação precisa das quantidades de fármacos incubadas nos hidrogéis. Na tentativa de analisar com detalhe este processo, foram considerados dois métodos de incubação alternativos (com

e sem filtração da solução de incubação). Adicionalmente, no método de carregamento que inclui a filtração da solução de carregamento, foram usados dois métodos alternativos de quantificação do fármaco transferido para o hidrogel. Um baseado no inchamento do hidrogel observado durante o processo de incubação e o segundo na análise por UV das soluções remanescentes. As limitações aqui assinaladas e as soluções adotadas encontram-se descritas e discutidas ao longo do trabalho.

## **1.4. Organização dos Capítulos**

Este trabalho encontra-se organizado em seis capítulos. Para além deste capítulo introdutório, no segundo capítulo faz-se uma fundamentação teórica da investigação aqui realizada. É feita nesse capítulo a definição de hidrogéis, as suas composições químicas alternativas e propriedades decorrentes que justificam a sua utilização como materiais de libertação controlada. São também apresentados em detalhe os quatro fármacos aqui utilizados e discutidas de forma simples as reações de polimerização potencialmente intervenientes na síntese de hidrogéis, nomeadamente os mecanismos FRP e RAFT. Ao longo deste capítulo é também feita a revisão bibliográfica e discutido o estado da arte nesta área de investigação. No terceiro capítulo são apresentados os procedimentos experimentais adotados na síntese dos hidrogéis e descritas as reações de polimerização realizadas. Em concreto, são descritos e discutidos os trabalhos experimentais realizados envolvendo polimerização em suspensão inversa (com formação de micropartículas de hidrogel), polimerização em solução e considerando os mecanismos FRP e RAFT. No quarto capítulo é demonstrada, através de medições experimentais, a efetiva estimulação dos hidrogéis sintetizados que pode ser realizada através da variação das suas condições envolventes (soluções aquosas). Em concreto, mostra-se a variação da sua razão de inchamento (SR) em função da temperatura, pH, força iónica ou presença de solvente desidratante. No quinto capítulo são apresentados os resultados experimentais relativos à incubação e dinâmica de libertação dos quatro fármacos a partir de hidrogéis selecionados. São discutidas combinações hidrogel/estímulo/fármaco que potenciem processos de libertação controlada. No sexto capítulo apresentam-se as principais conclusões deste trabalho e sugestões para investigações futuras nesta área.

## Capítulo 2 – Fundamentação Teórica

### 2.1. Introdução

Neste capítulo apresenta-se a fundamentação teórica inerente ao desenvolvimento do trabalho proposto, começa-se por definir e descrever algumas propriedades dos hidrogéis, mais à frente aborda-se o tema da libertação controlada, nomeadamente os sistemas de libertação controlada de fármacos. Seguidamente apresentam-se os fármacos envolvidos no estudo, a utilização destes no tratamento de algumas doenças, nomeadamente a tuberculose e alguns carcinomas do trato gastrointestinal. Por último, é feita uma explicação mecanicista simples dos processos de polimerização considerados na parte experimental para sintetizar hidrogéis. Ao longo deste capítulo é também feita a revisão bibliográfica e discutido o estado da arte nesta área de investigação.

### 2.2. Hidrogéis

Hidrogéis são redes tridimensionais de polímeros hidrofílicos capazes de reter grandes quantidades de água ou fluidos biológicos, mantendo-se sempre no estado sólido, uma vez que são insolúveis devido às suas características físico-químicas. Os hidrogéis que reversivelmente incham e colapsam devido a pequenas alterações nas condições ambientais, tais como a temperatura, o pH, o campo elétrico, a luz, a pressão, a força iónica, solvente, entre outros, são conhecidos como *”stimuli-responsive”* ou hidrogéis inteligentes. A temperatura e o pH são amplamente utilizados neste contexto uma vez que são estímulos fáceis de controlar [5, 6].

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. Grupos funcionais hidrofílicos, tais como -OH, -COOH, CONH<sub>2</sub> e -SO<sub>3</sub>H presentes nos hidrogéis possuem a capacidade de absorver água, sem sofrer dissolução.

Os hidrogéis podem ser preparados a partir de polímeros naturais ou sintéticos. Embora os hidrogéis feitos a partir de polímeros naturais não possam proporcionar suficiente resistência mecânica e possam conter agentes patogénicos ou ainda gerar respostas

imunitárias/inflamatórias, eles oferecem diversas vantagens, tais como, biocompatibilidade, biodegradabilidade e fragmentos biologicamente reconhecíveis que apoiam a atividade celular. Por sua vez, os hidrogéis sintéticos não possuem inertemente estas propriedades bioativas. Felizmente, os polímeros sintéticos têm geralmente estruturas bem definidas que podem ser modificadas com o objetivo de obter degradabilidade e funcionalidade requeridas.

Os hidrogéis têm sido desenvolvidos como materiais de resposta a diferentes estímulos, podendo sofrer alterações abruptas de volume em resposta a pequenas alterações nos parâmetros ambientais, como o pH, a temperatura e força iônica. Estas características únicas dos hidrogéis têm um elevado interesse na libertação de princípios ativos, na encapsulação de células bem como na engenharia de tecidos [7-10]. Polímeros com resposta a diferentes estímulos têm desempenhado um papel importante no desenvolvimento de novos hidrogéis inteligentes [11].

### **2.2.1. Tipos de Hidrogéis Sensíveis ao pH**

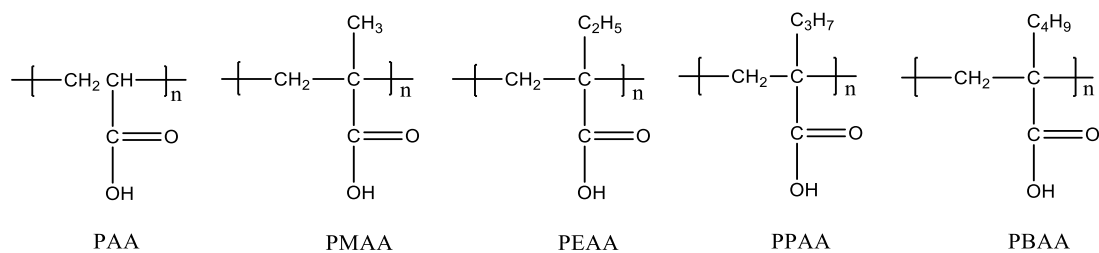
Os hidrogéis sensíveis ao pH são produzidos com base em polímeros que possuem grupos iônicos livres. A presença destes grupos, que em solução aquosa estão ionizados, origina forças de repulsão eletrostática, induzindo alterações na rede do polímero (expansão do polímero). São exemplos de polímeros iônicos sensíveis ao pH as poli(acrilamidas), o poli (ácido acrílico), o poli (ácido metacrílico), polidietilaminoetilmetacrilato e o polidimetilaminoetilmetacrilato. O inchamento induzido pelo pH é observado também em polímeros naturais, tais como, albuminas, gelatinas e quitosano. O quitosano, foi usado na libertação dos antibióticos amoxicilina e metronidasol, atuando como um transportador de fármacos sensível às alterações de pH. Devido à presença de grupos amino que estão protonados em ambiente ácido, em fluido gástrico (pH=1.2) a razão de inchamento é muito maior que em fluido intestinal (pH=7.5/8). Este facto, conduziu a uma libertação mais rápida do antibiótico em fluido gástrico, devido à elevada porosidade da matriz do hidrogel. Desta forma, hidrogéis com esta capacidade de inchamento e consequente libertação do fármaco podem ser utilizados no tratamento de doenças gástricas aquando da administração local de antibióticos [5].

### 2.2.1.1. Hidrogéis Iônicos

Hidrogéis iônicos, conhecidos como polieletrólitos, são preparados a partir de monómeros com cargas iônicas. As cargas podem ser positivas ou negativas, permitindo classificar os hidrogéis em catiónicos ou aniônicos respectivamente. Por outro lado, uma combinação de cargas positivas e negativas remete-nos para macromoléculas anfotéricas [12-15]. A teoria dos fenômenos de transição de fase de polieletrólitos foi desenvolvida por *Dusek e Patterson* [16]. As potencialidades da resposta a estímulos são aumentadas devido à inclusão de espécies carregadas na espinha dorsal do polímero, podendo estas ser controladas, dependendo da natureza dos grupos pendentes, alargando assim a diversidade de aplicações dos hidrogéis [13-18].

#### 2.2.1.1.1. Hidrogéis Aniônicos

Redes de hidrogéis aniônicos são geralmente referidas como homopolímeros de ácidos carregados negativamente, monómeros aniônicos ou copolímeros de monómeros aniônicos e neutros. No entanto, hidrogéis aniônicos podem também ser preparados a partir de modificações de hidrogéis não iônicos já existentes [12]. Os polímeros aniônicos vulgarmente utilizados na composição de hidrogéis aniônicos (redes tridimensionais desses polímeros) são apresentados na Figura 1.

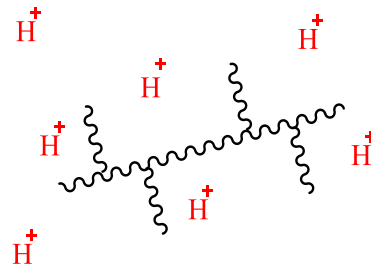


**Figura 1:** Exemplos de estruturas químicas de base de hidrogéis aniônicos (representam-se aqui apenas os análogos lineares).

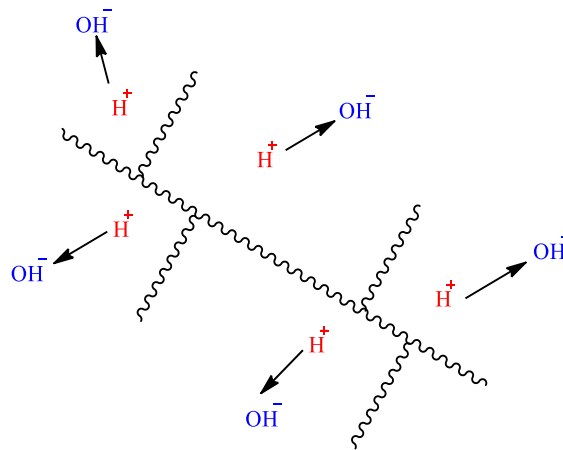
Os hidrogéis aniônicos são conhecidos pela sua capacidade de apresentar uma elevada razão de inchamento com o aumento do pH do meio envolvente [17,18].

Vários investigadores têm estudado os comportamentos de inchamento dinâmico de hidrogéis aniônicos sensíveis ao pH. Geralmente, estes contêm grupos carboxílicos. Exemplos típicos de tais polímeros incluem AA e MAA. A presença de um segmento

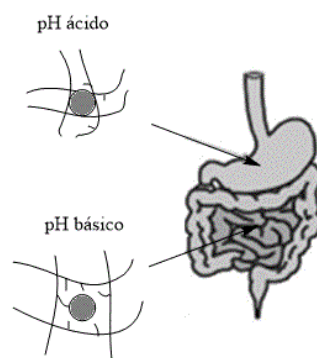
carboxílico faz com que copolímeros de PAA, PMAA com PEG, PVA e poli (metacrilato de hidroxietileno) também apresentem sensibilidade ao pH.



**Figura 2:** Representação esquemática do comportamento esperado para um hidrogel aniônico em meio ácido (contração da rede de polímero).



**Figura 3:** Representação esquemática do comportamento esperado para um hidrogel aniônico em meio alcalino (inchamento da rede de polímero).



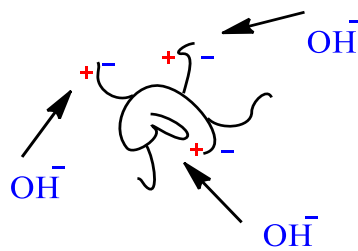
**Figura 4:** Esquema ilustrativo do comportamento esperado para um hidrogel aniônico sensível ao pH, no estômago (meio ácido) e no intestino (meio alcalino) [adaptado de 19].

Nas figuras 2 a 4 são ilustrados os comportamentos esperados para hidrogéis aniônicos em função do pH do meio circundante.

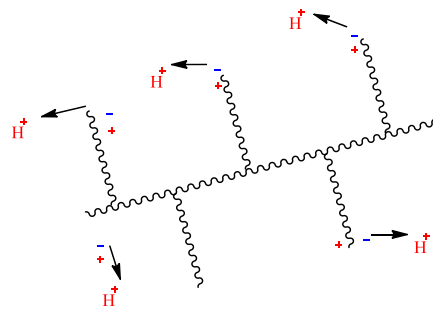
### 2.2.1.1.2. Hidrogéis Catiônicos

Homopolímeros básicos carregados positivamente, monómeros catiónicos ou copolímeros de monómeros catiónicos e naturais são geralmente referidos como redes de hidrogéis catiónicos. Redes de polímero catiónico podem derivar de modificações, tais como, hidrólise parcial de redes de polímero não iônicas já existentes. Também é possível sintetizar hidrogéis catiónicos através de reação de complexação de polieletrólitos, por adição de excesso de policatiões [12].

Redes de polímeros com grupos pendentes catiónicos funcionam contrariamente a redes de polímeros com grupos pendentes aniônicos, uma vez que permanecem colapsados em meio básico e inchados em meio ácido devido à repulsão eletrostática entre os grupos carregados positivamente [17, 18].

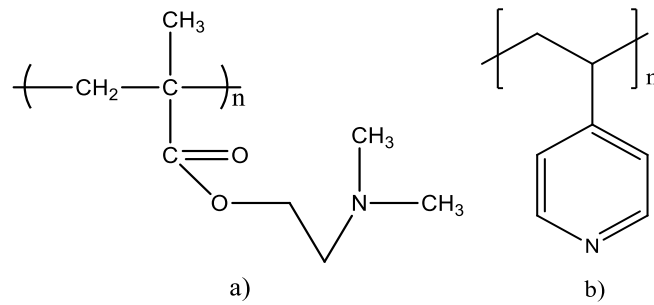


**Figura 5:** Representação esquemática do comportamento esperado para um hidrogel catiónico em meio alcalino (contração da rede de polímero).

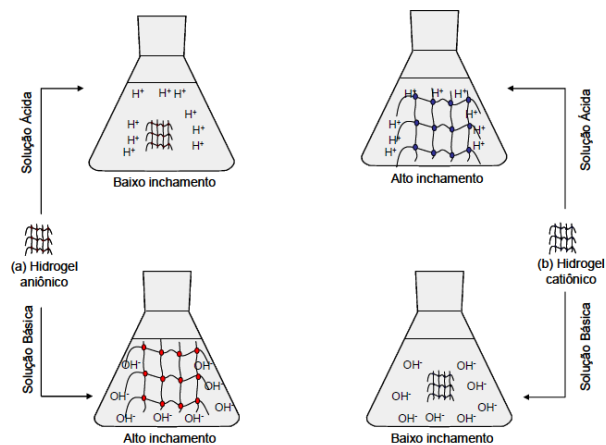


**Figura 6:** Representação esquemática do comportamento esperado para um hidrogel catiónico em meio ácido (inchamento da rede de polímero).

Nas Figuras 5 a 8 são apresentadas ilustrações relativas ao comportamento esperado de hidrogéis catiónicos colocados em soluções aquosas com diferentes valores de pH.



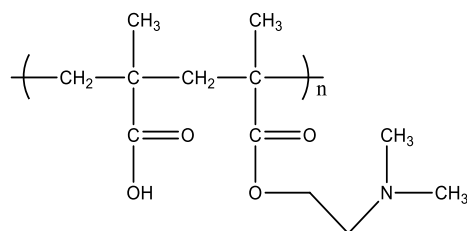
**Figura 7:** Exemplos de estruturas químicas de base de hidrogéis catiónicos (representam-se aqui apenas os análogos lineares). a) PDMAEMA. b) PVPI.



**Figura 8:** Esquema comparativo do comportamento de hidrogéis aniônicos e catiónicos em soluções aquosas ácidas e alcalinas [20].

### 2.2.1.1.3. Hidrogéis Anfotéricos

Redes de hidrogéis anfotéricos são macromoléculas que possuem tanto cargas positivas como negativas em toda a sua rede de polímero [13,21,22] (ver também exemplo na Figura 9). A presença de espécies iônicas ao longo da cadeia polimérica tem efeitos distintos nas propriedades dos hidrogéis anfotéricos se em solução ou no estado sólido [21].



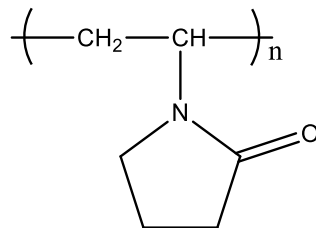
**Figura 9:** Estrutura química do polímero anfotérico resultante da copolimerização de MAA com DMAEMA.

Estes hidrogéis têm um vasto leque de aplicações biomédicas incluindo sistemas de libertação de fármacos [13-15, 23-25].

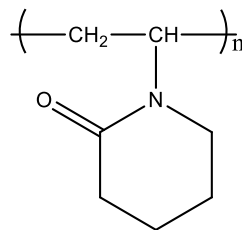
### 2.2.1.2. Hidrogéis Não Iônicos

Hidrogéis não iônicos, frequentemente chamados de hidrogéis neutros, são redes de homopolímeros ou copolímeros, desprovidos de quaisquer cargas na sua estrutura (ver exemplos nas Figuras 10 e 11). Estes hidrogéis podem resultar de várias técnicas de polimerização ou por conversão de polímeros já existentes.

O colapso ou inchamento de redes de um hidrogel neutro está intimamente ligado à temperatura do meio envolvente [26].



**Figura 10:** Estrutura química do polímero não iônico (neutro) resultante da polimerização de NVP.



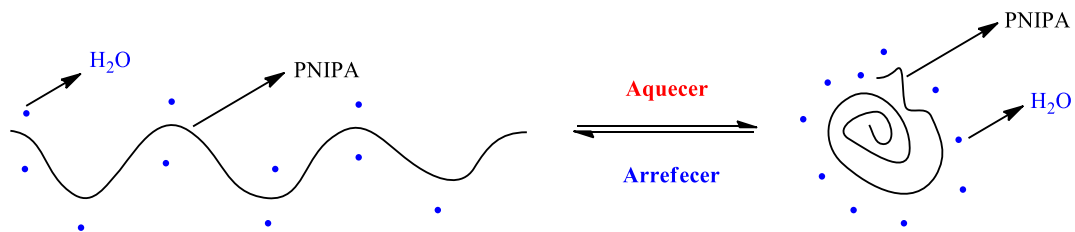
**Figura 11:** Estrutura química do polímero não iônico (neutro) resultante da polimerização de VCL.

### 2.2.2. Tipos de Hidrogéis Sensíveis à Temperatura

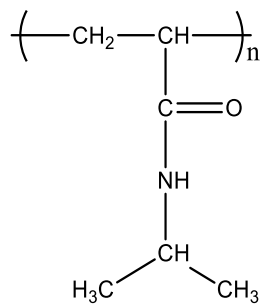
Os hidrogéis sensíveis à temperatura são provavelmente o tipo de hidrogéis mais estudados em sistemas de libertação de fármacos. Estes hidrogéis têm a capacidade de inchar e colapsar com mudanças de temperatura do fluido envolvente, podendo ser classificados em hidrogéis termosensíveis negativos, termosensíveis positivos ou termoreversíveis [19].

### 2.2.2.1. Hidrogéis Termosensíveis Negativos

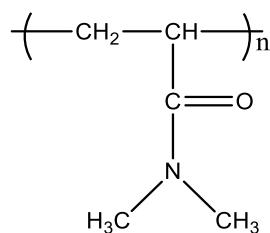
Hidrogéis termosensíveis negativos têm uma temperatura de solução crítica inferior (LCST) e contraem com o aquecimento acima da mesma (ver Figuras 12 a 14). São hidrogéis que teoricamente mostram um comportamento *on/off* na libertação de fármacos, *on* a baixas temperaturas e *off* a altas temperaturas permitindo uma libertação pulsátil do fármaco [27].



**Figura 12:** Esquema ilustrativo do comportamento reversível idealmente esperado para hidrogéis termosensíveis negativos com o aquecimento e o arrefecimento da solução aquosa que os contém.



**Figura 13:** Estrutura química do polímero sensível à temperatura resultante da polimerização de NIPA.



**Figura 14:** Estrutura química do polímero sensível à temperatura resultante da polimerização de DMA.

### 2.2.2.2. Hidrogéis Termosensíveis Positivos

Hidrogéis termosensíveis positivos têm uma temperatura de solução crítica superior (UCST). Estes contraem após arrefecimento abaixo da UCST. A razão de inchamento

de redes de polímeros de PAA e PAAM depende ligeiramente da temperatura de forma positiva.

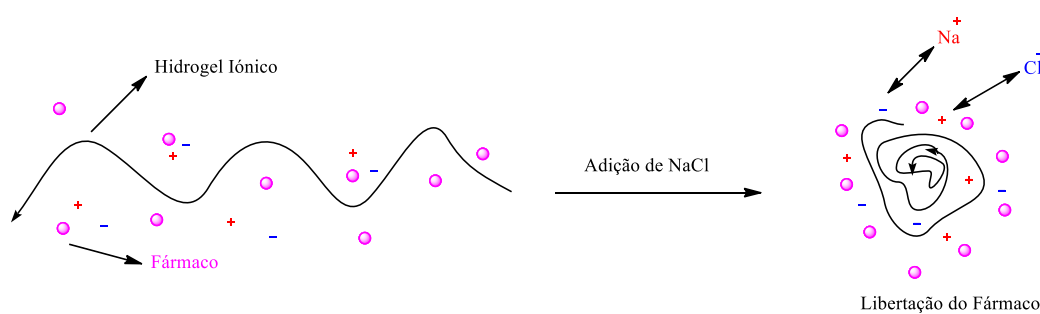
### 2.2.3. Hidrogéis Termoreversíveis

São diversos os estudos efetuados com o objetivo de sintetizar e caracterizar hidrogéis com dupla sensibilidade. Tem sido conseguido através de copolimerização de monómeros termosensíveis, como a NIPA, com monómeros sensíveis ao pH, tais como AA, e MAA. Ao longo deste trabalho são sintetizados hidrogéis com esta dupla sensibilidade (ver Tabela 2).

Esta nova classe de copolímeros consegue detetar mudanças ambientais no meio fisiológico e encontra potencial utilidade na libertação intracelular de fármacos em que as pequenas diferenças de pH através da membrana endossomal desencadeiam a libertação de proteína ou DNA.

### 2.2.4. Hidrogéis Sensíveis a Forças Iónicas

Devido ao movimento de iões, tanto os hidrogéis catiónicos como os aniónicos são sensíveis à variação de forças iónicas (concentração de sais), como se ilustra de forma simples na Figura 15.



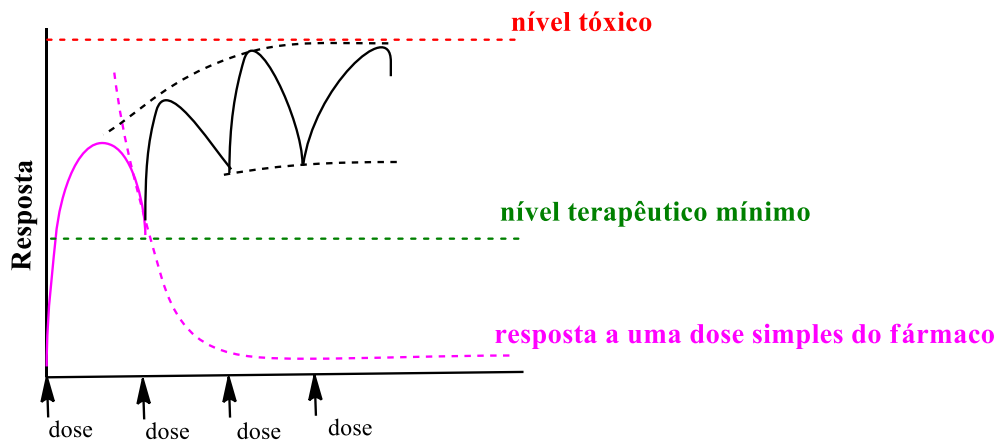
**Figura 15:** Esquema ilustrativo do comportamento idealmente esperado para hidrogéis iónicos em solução aquosa com adição de um sal (ex. NaCl). A eventual libertação de um fármaco pode ser promovida quando o hidrogel se encontra contraído, por ação do aumento da força iónica.

## 2.3. Administração de Fármacos

O efeito de um medicamento depende da quantidade de substância ativa que penetra no organismo, podendo atuar localmente na região da sua aplicação ou ser absorvido de modo a atingir os órgãos e tecidos cuja resposta é pretendida [28]. Os medicamentos podem atuar por dois caminhos distintos, nomeadamente, penetrando no meio interior de forma a atingirem os órgãos ou tecidos em que devem atuar (medicamentos absorvidos), ou, agindo localmente, ao nível da região que recebeu a sua aplicação (medicamentos tópicos locais) [28]. Os fármacos são considerados a pedra angular da terapêutica moderna. De facto, estes interagem com moléculas alvo específicas, produzindo efeitos benéficos (mas também adversos). A cadeia de eventos entre a administração de um fármaco e a produção desses efeitos no organismo pode ser dividida em duas vertentes. A primeira abrange os processos que determinam o transporte do fármaco até aos alvos moleculares e a sua remoção destes. A descrição resultante da relação entre a concentração do fármaco e o tempo denomina-se farmacocinética. A segunda vertente foca a variabilidade na ação dos fármacos e compreende os processos que determinam a diferenciação dos efeitos resultantes do transporte do fármaco até aos locais efetores (locais que respondem seletivamente a um determinado estímulo). Essa descrição da relação entre a concentração e o efeito do fármaco é chamada de farmacodinâmica. A variabilidade farmacodinâmica pode advir como resultado da variação da função da molécula alvo ou do contexto biológico geral em que a interação alvo/fármaco ocorre de modo a atingir os efeitos do fármaco [29]. Os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção determinam a concentração de um fármaco libertado até às moléculas alvo efetoras. Quando administrado um fármaco por via oral, subcutânea, intramuscular, retal, sublingual ou diretamente nos locais de ação desejados, a quantidade de fármaco que efetivamente chega à circulação sistémica pode ser menor que a quantidade que chega por via intravenosa [29]. Considera-se que um dado medicamento é absorvido quando após a sua administração o fármaco passa para a corrente circulatória (sangue e linfa). Claramente, este objetivo pode conseguir-se por meios naturais, como a absorção através da mucosa do trato gastrointestinal, ou forçando a barreira cutânea, como acontece na administração por via injetável [28].

A fração de fármaco disponível na circulação sistêmica pelas outras vias denomina-se de biodisponibilidade, a qual é inferior a 100% por duas razões: (1) a absorção é reduzida, ou (2) o fármaco sofre metabolismo ou eliminação antes de entrar na circulação sistêmica [29].

O transporte dos fármacos através das membranas biológicas pode efetuar-se por mecanismos diferentes, designados por filtração, transporte passivo, difusão facilitada, transporte ativo e pinocitose [29].



**Figura 16:** Esquemática dos níveis séricos observados com a administração convencional de fármacos [adaptado de 28].

É necessário estabelecer um plano de tratamento tal que a dose máxima não ultrapasse o efeito terapêutico, a fim de não provocar fenómenos de intoxicação, e a dose mínima se reduza a valores que façam com que o doente fique privado, por tempo mais ou menos longo, da efetiva atuação do fármaco. Se a dosagem unitária e o intervalo de tempo com que esta é administrada forem corretamente escolhidos, o que não é fácil, haverá oscilações do nível sanguíneo, mas este manter-se-á dentro dos limites da resposta terapêutica efetiva (ver Figura 16) [28]. Desta forma, tentam-se desenvolver sistemas medicamentosos capazes de produzir, com uma única dose, um tempo de atividade biológica que se aproxime, tanto quanto possível, da ação considerada ideal. São de referir neste contexto as formas farmacêuticas de disponibilidade modificada e, em particular, as de libertação prolongada [28].

### **2.3.1. Administração Cutânea**

A criação de novas formas farmacêuticas (novos sistemas terapêuticos) de aplicação cutânea veio proporcionar uma excelente penetração da pele por vários fármacos. Tais sistemas de administração permitem que o doente receba, constantemente, uma certa quantidade de fármaco, o que evita sobredosagens ou concentrações inferiores à dose terapêutica, sendo muito mais prático que a administração tradicional [28]. O pH da zona cutânea oscila entre 5 e 7.

### **2.3.2. Administração Parental: Via Subcutânea**

Como o nome indica, por via subcutânea ou hipodérmica os medicamentos são administrados debaixo da pele, no tecido subcutâneo. As doses dos fármacos aplicados por esta via são habitualmente, metade das empregadas por via oral. A absorção das implantações é influenciada pelo facto do fármaco se comportar como um ácido fraco ou como uma base fraca [28].

### **2.3.3. Administração por Via Gastrointestinal**

É fundamentalmente, a mucosa do intestino delgado a que maior probabilidade apresenta de promover a absorção medicamentosa. Efetivamente, as mucosas do esófago e do estômago comportam-se como mucosas de passagem, se bem que se possa registar absorção gástrica de alguns fármacos. O poder de absorção do estômago potencia-se em condições patológicas, como lesões da mucosa, tendo-se observado, por exemplo, que certos indivíduos portadores de úlceras gástricas e medicados com subnitrato de bismuto são capazes de absorver esta substância protetora, já que na sua urina se tem detetado bismuto. Contudo, vários medicamentos são capazes de penetrar a mucosa gástrica proporcionando uma verdadeira absorção, embora inferior á que se regista no intestino delgado. A cafeína é um exemplo de substâncias suscetíveis de serem absorvidas por via gástrica. A mucosa intestinal, em razão da sua elevada vascularização e extraordinário desenvolvimento da sua superfície (vilosidades e válvulas coniventes), está fisiologicamente destinada à absorção. O pH do suco intestinal aumenta da porção proximal para a porção distal do intestino (no duodeno o

pH é de 5 a 6 e no íleo de cerca de 8). Os valores do pH do plasma e do suco gástrico são, respetivamente, de 7,4 e de 1 a 3,5 [28].

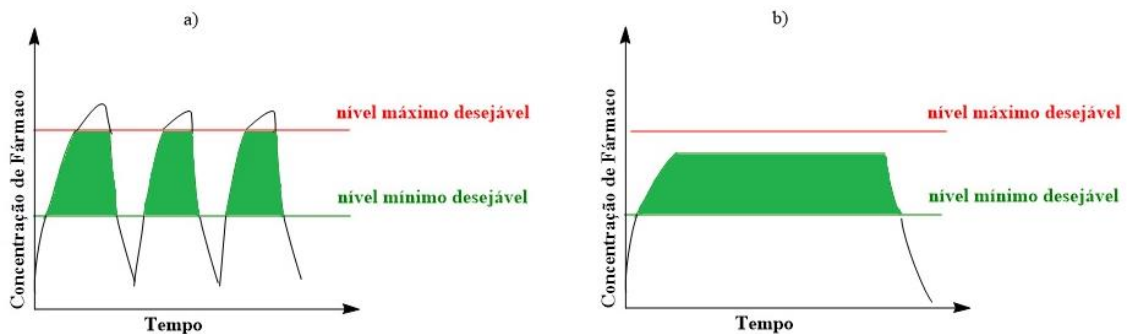
## 2.4. Libertação Controlada de Fármacos

A designação “sistema de libertação de fármacos” refere-se à tecnologia utilizada para otimizar a libertação de um determinado fármaco, onde o princípio ativo deve ser libertado/absorvido de forma a melhorar a resposta terapêutica [20]. A administração de fármacos pode ser efetuada de diferentes formas (via oral, via endovenosa, via intramuscular e via subcutânea), tendo cada uma destas vias de administração objetivos específicos, vantagens e desvantagens. Um sistema de libertação controlada pode ser definido como químico, mecânico ou dispositivo eletromecânico que fornece fármacos para a circulação sistémica ou para locais de ação específicos no corpo, pré-determinados e controlados [19]. Uma vez administrado, apenas uma pequena quantidade do fármaco atinge o tecido alvo, sendo grande parte do mesmo desperdiçada, devido à sua distribuição por outros tecidos e à sua metabolização ou excreção momentos antes de atingir o local da ação propriamente dito [31]. O principal objetivo da libertação controlada de fármacos reside no controlo temporal e espacial, *in vivo*, da concentração de fármacos para que o benefício clínico da administração destes seja maximizado e os efeitos adversos minimizados. A libertação controlada de fármacos envolve a associação, física e química, dos fármacos com materiais biocompatíveis em sistemas que, quando administrados, *in vivo*, tenham a capacidade de controlar, de forma pré-determinada, a taxa de libertação/absorção do fármaco a partir desse mesmo sistema, e conduzir o fármaco até ao sítio específico em que este deve atuar [31]. O desenvolvimento de SLC de fármacos pode ser visto como um projeto complexo, uma vez que envolve o conhecimento e integração de uma série de aspetos de natureza diversa, tais como:

- As propriedades físico-químicas, farmacodinâmicas e farmacocinéticas do fármaco.
- A via de administração e as conseqüentes barreiras fisiológicas e bioquímicas impostas à absorção do fármaco.

- As propriedades do material ou materiais de base do SLC de fármacos, nomeadamente, propriedades físico-químicas, biocompatibilidade, interações com o fármaco, comportamento *in vivo* associado, etc.
- Métodos e tecnologias utilizadas na produção do SLC.

Os SLC de fármacos envolvem o domínio de conhecimentos associados a diversas áreas científicas como a medicina, farmácia, engenharia, química, bioquímica e outras. Pode dizer-se que a libertação controlada de fármacos é considerada uma área inerentemente interdisciplinar [31]. Nos sistemas convencionais, a concentração de fármaco no sangue apresenta um aumento contínuo, atingindo um máximo, seguindo-se um declive acentuado, como se mostra na Figura 17 a). Os níveis plasmáticos são dependentes das doses administradas, sendo que cada fármaco possui uma faixa de ação terapêutica acima da qual ela é tóxica e abaixo da qual é ineficaz. Com a libertação controlada de fármacos pretende-se encontrar um sistema que permita manter a concentração do fármaco na corrente sanguínea no limiar da faixa terapêutica, por um período de tempo prolongado, com recurso a uma única dosagem, como descrito na Figura 17 b) [20].



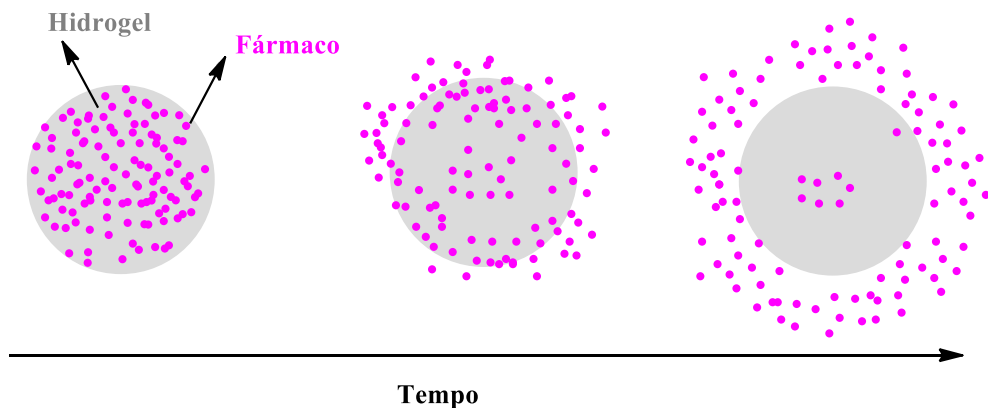
**Figura 17:** Perfis típicos da concentração de fármaco na corrente sanguínea em função do tempo. (a) administração convencional com diferentes doses e (b) libertação controlada [adaptado de 20].

### 2.4.1. Mecanismos de Libertação Controlada

Os hidrogéis podem libertar os fármacos neles incubados através de dois mecanismos diferentes: a difusão e o inchamento da estrutura polimérica. Nos hidrogéis aqui sintetizados e testados, a libertação de fármacos ocorre, em princípio, em resultado da combinada ação destes dois mecanismos.

### 2.4.1.1. Mecanismo de Libertação por Difusão

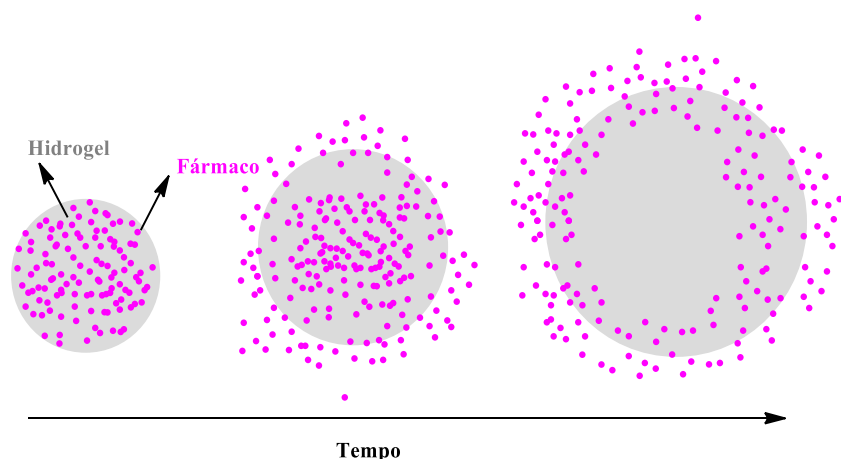
O mecanismo de libertação por difusão consiste no transporte de moléculas de fármaco para o meio externo, através da matriz polimérica. Os parâmetros críticos neste mecanismo são a solubilidade e a difusividade. A solubilidade é uma propriedade de equilíbrio que descreve a interação entre o fármaco e a matriz do polímero. Quanto maior esta interação, menor será a velocidade de difusão, devido a uma maior retenção do fármaco. A solubilidade depende de fatores, como ligações que se possam formar do contacto fármaco/polímero, polaridade ou presença de estruturas de cadeias poliméricas altamente densas [3]. A difusividade é uma propriedade cinética que descreve a facilidade com que as moléculas do fármaco se movem através do polímero, podendo esta ser afetada por vários fatores, tais como as características do hidrogel e do fármaco [3]. Na Figura 18 é possível observar o mecanismo de libertação por difusão.



**Figura 18:** Representação esquemática do mecanismo de libertação de fármacos por difusão.

### 2.4.1.2. Mecanismo de Libertação por Inchamento da Estrutura Polimérica

Os polímeros hidrofílicos, quando em contacto com uma solução aquosa, absorvem as moléculas de água, ocorrendo um aumento do volume da estrutura polimérica. Quando estes polímeros entram em contacto com fluidos, o volume da sua estrutura aumenta devido à absorção dos mesmos, isto aumenta a flexibilidade das cadeias de polímero e consequentemente a difusividade do fármaco [3]. Desta forma, pode dizer-se que a libertação do fármaco ocorre quando o hidrogel se encontra na sua forma inchada. Na Figura 19 é possível visualizar o mecanismo explicado anteriormente.



**Figura 19:** Representação esquemática do mecanismo de liberação de fármacos por inchamento da estrutura polimérica.

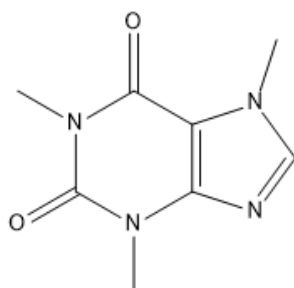
## 2.5. Fármacos

À palavra droga tem-se atribuído um significado que podemos considerar como pouco preciso. De facto, quando aludimos a drogas, referimo-nos, preferencialmente, aos produtos de natureza animal, vegetal ou mineral, empregados na preparação de medicamentos. Entretanto, a palavra droga é, também, tomada na aceção de matéria-prima de uso farmacêutico ou não, significando tanto os produtos naturais, como os obtidos por síntese. Contudo, a conotação atual entre droga e toxicomania leva-nos a procurar utilizar aquele termo o menos possível, a fim de evitar confusões resultantes do desvirtuamento do sentido daquela palavra de há anos para cá. Efetivamente, o termo droga toma-se habitualmente no sentido lato, significando o produto simples ou complexo que pode servir como matéria-prima de uso farmacêutico, químico, etc. É hábito corrente designar por fármacos (do grego *Pharmakon*) todas as drogas utilizadas em farmácia e dotadas de ação farmacológica ou, pelo menos, de interesse médico. Quer isto dizer que o conceito de droga abrange o de fármaco, ou que o fármaco é o tipo especial de droga. As drogas e os fármacos constituem, pois, as matérias-primas de que os farmacêuticos se servem para obter os medicamentos [28]. O Decreto-Lei n.º 72/91 não refere o termo fármaco. Mas define «substância ativa» como «toda a matéria de origem humana, animal, vegetal ou química, à qual se atribui uma atividade apropriada para constituir um medicamento». Quer no que diz respeito à diversidade de origem, quer a propósito da atividade terapêutica, verifica-se que existe correspondência entre este conceito e o de fármaco [28].

Ao longo do presente trabalho fala-se sempre em fármaco para designar as matérias-primas utilizadas no estudo (cafeína, ibuprofeno, isoniazida e 5-fluoruracilo). Têm sido apresentadas numerosas definições de medicamento. Segundo o Decreto-lei n.º 72/91 «medicamento» é definido como «toda a substância ou composição que possua propriedades curativas ou preventivas das doenças e dos seus sintomas, do homem ou do animal, com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou a restaurar, corrigir ou modificar as suas funções orgânicas» [28].

### 2.5.1. Cafeína

A cafeína (CAF) tem mecanismos semelhantes às anfetaminas, cocaína e heroína, no entanto os seus efeitos são bem mais leves. O efeito mais conhecido da cafeína é a sua ação como estimulante do Sistema Nervoso Central, tendo capacidade de chegar à corrente sanguínea e, deste modo, atingir o córtex cerebral exercendo aí os seus efeitos. As suas propriedades físico químicas e estrutura química são apresentadas na Tabela 10 dos Anexos deste trabalho.

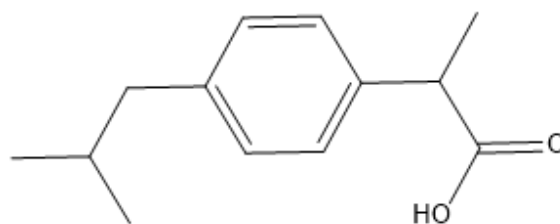


**Figura 20:** Estruturas químicas dos fármacos usados neste trabalho: cafeína.

### 2.5.2. Ibuprofeno

O ibuprofeno (IBU) é um fármaco do grupo dos anti-inflamatórios não esteroides (do subgrupo químico dos derivados do ácido propanóico), fármacos que têm em comum a capacidade de combater a inflamação, a dor e a febre. O ibuprofeno foi sintetizado pela primeira vez em Dezembro de 1961 no Reino Unido, pelo Dr. *Stewart Adams* e seus colegas *Jonh Nicholson* e *Colin Burrows*. Nesse mesmo ano, este fármaco foi patenteado. Apenas em 1969 aparece comercializado no Reino Unido e posteriormente nos EUA, em 1974 [32]. É um fármaco geralmente bem tolerado, mas poderá desencadear dor de cabeça e de estômago, vômitos, diarreia, podendo também produzir

diversas gastropatias, entre as quais, úlceras no estômago e duodeno (uma vez que bloqueia a produção da barreira de proteção da mucosa gástrica) [33]. O ibuprofeno apresenta-se como um pó branco ou com cristais incolores, com leve odor característico, sendo praticamente insolúvel em água, mas solúvel em soluções aquosas diluídas em hidróxidos alcalinos e de carbonatos, e em alguns solventes orgânicos como a acetona, o metanol, o cloreto de metileno, o álcool etílico, o éter, o diclorometano e o clorofórmio [33]. As suas propriedades físico químicas e estrutura química são apresentadas na Tabela 10 dos Anexos deste trabalho.



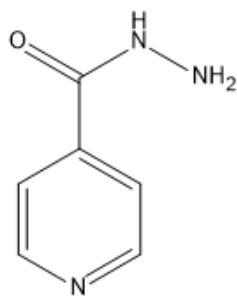
**Figura 21:** Estruturas químicas dos fármacos usados neste trabalho: ibuprofeno.

### 2.5.3. Isoniazida

A isoniazida (INH) é um fármaco antibacteriano que inibe a síntese do ácido micólico, componente essencial da parede celular da micobactéria [34]. A INH foi sintetizada a primeira vez em 1912, numa Universidade Alemã, por *Meyer* e *Mally*, tendo sido redescoberta em 1952 por outros laboratórios na Alemanha, Suíça e Estados Unidos [4]. A INH é barata, rapidamente sintetizada, disponível ao mundo inteiro, altamente seletiva para as micobactérias e bem tolerada, e apenas 5% dos utentes apresentam efeitos adversos.

As preparações tanto orais quanto intramuscular da INH são rapidamente absorvidas [29]. A INH é a hidrazida do ácido isonicotínico, uma pequena molécula hidrossolúvel, que penetra facilmente na célula. O seu mecanismo de ação envolve a inibição da síntese de ácido micólico na parede celular através de vias dependentes de oxigénio, como a reação de catalase-peroxidase. A INH é um agente bacteriostático contra bacilos dormentes e bactericida contra microrganismos em multiplicação rápida tanto extracelulares como intracelulares [29]. A isoniazida tem desempenhado um papel muito importante na terapêutica e profilaxia da tuberculose, sendo um dos antibióticos de primeira linha receitados e administrados em todo o mundo. As suas propriedades

físico químicas e estrutura química são apresentadas na Tabela 10 dos Anexos deste trabalho.

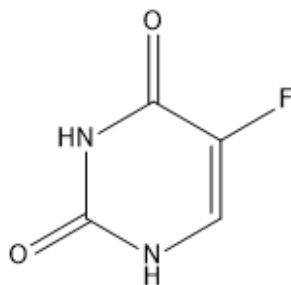


**Figura 22:** Estruturas químicas dos fármacos usados neste trabalho: isoniazida.

#### 2.5.4. 5-Fluoruracilo

O 5-Fluoruracilo (5-FU) é um agente antineoplásico que pertence ao grupo das fluoropiridinas. Este princípio ativo foi sintetizado a primeira vez em 1957, por *Heidelberger* [3]. Para além de ser utilizado no cancro do cólon, é também utilizado no tratamento dos cancros da mama, cabeça e pescoço. O 5-FU representa um exemplo preliminar da elaboração “racional” de fármacos, visto que surgiu da observação de que as células tumorais incorporam uracila radiomarcada com mais eficiência no DNA que as células normais, em particular no intestino. O 5-FU é metabolizado nas células em 5’FdUMP, que inibe a timidilato sintetase [29]. Este fármaco apresenta efeitos secundários, tais como a severa toxicidade do sistema gastrointestinal ou mielosupressão. As suas propriedades físico químicas e estrutura química são apresentadas na Tabela 10 dos Anexos deste trabalho.

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 [29].



**Figura 23:** Estruturas químicas dos fármacos usados neste trabalho: 5-fluoruracilo.

## 2.6. Reações de Polimerização- conceitos genéricos

Nesta secção faz-se uma descrição mecanicista simples dos passos cinéticos envolvidos em reações de adição por radicais livres. É abordada a polimerização radicalar clássica (FRP) e também o mecanismo RAFT (Polimerização via Transferência de Cadeia Reversível por Adição-Fragmentação). Deve no entanto notar-se que a formação de redes de polímero (das quais os hidrogéis são um caso particular) é um assunto complexo por se tratar de um processo não-linear [35-46].

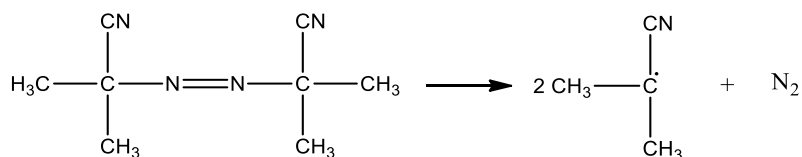
### 2.6.1. Polimerização Radicalar Clássica (FRP)

A polimerização radicalar clássica é composta por pelo menos três etapas bem definidas, iniciação, propagação e terminação. Nos esquemas abaixo apresentados ilustram-se os mecanismos cinéticos de base envolvidos numa polimerização radicalar clássica (FRP). Note-se que o número e tipo de mecanismos cinéticos envolvidos numa polimerização radicalar pode ser substancialmente maior, sendo aqui apenas apresentada uma ilustração simples destes processos de reação. Na etapa de decomposição do iniciador (AIBN é aqui usado como exemplo) são criados radicais livres que têm a capacidade de fazer a iniciação do monómero (foi considerado ácido acrílico como exemplo). Na etapa de propagação do monómero verifica-se o crescimento das cadeias de polímero (polimerização propriamente dita) através da adição de um radical polimérico com uma unidade de monómero. A etapa de reticulação das ligações pendentes do *crosslinker* estabelece a grande diferença entre uma polimerização radicalar linear (geralmente com formação de produtos solúveis) e uma polimerização radicalar não linear (levando potencialmente à formação de géis/hidrogéis insolúveis). No último caso é formada uma rede de polímero tridimensional que não é fusível nem pode ser solubilizada em nenhum tipo de solvente. Note-se que este trabalho tinha como objetivo a síntese de hidrogéis e por isso foram incluídos reticulantes de diferentes tipos na mistura reacional (foram testados *crosslinkers* bifuncionais, trifuncionais e tetrafuncionais). Classicamente, as polimerizações FRP evoluem etapas de terminação (por combinação e/ou dismutação) em que dois radicais vivos (ativos) se aniquilam mutuamente gerando a formação de grupos inativos (mortos). As etapas de terminação são responsáveis em grande parte

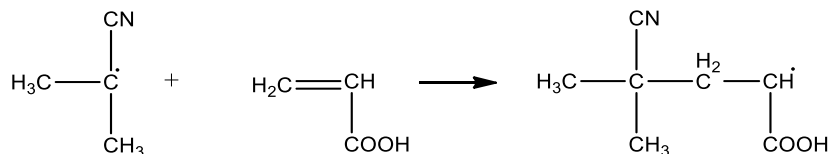
pela geração de produtos com elevada heterogeneidade (população de moléculas com tamanhos muito diversos). Nos anos mais recentes têm sido estudadas técnicas de síntese radicalar alternativas (polimerizações radicalares controladas) que tentam minimizar a incidência das reações de terminação e portanto gerar produtos com maior homogeneidade (e concomitantemente com propriedades melhoradas). Essa nova via foi também testada neste trabalho considerando a síntese de hidrogéis através de polimerização via transferência de cadeia reversível por adição-fragmentação (RAFT), como de seguida brevemente descrito.

### Esquema Cinético de Base para uma FRP

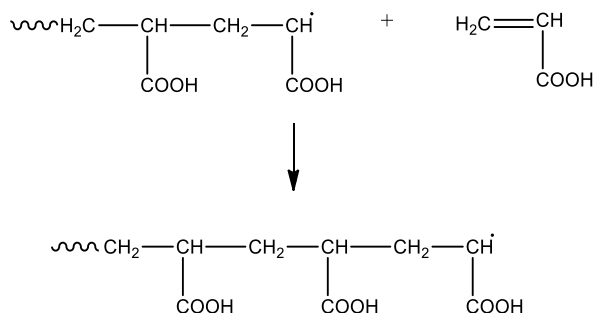
Decomposição do iniciador:



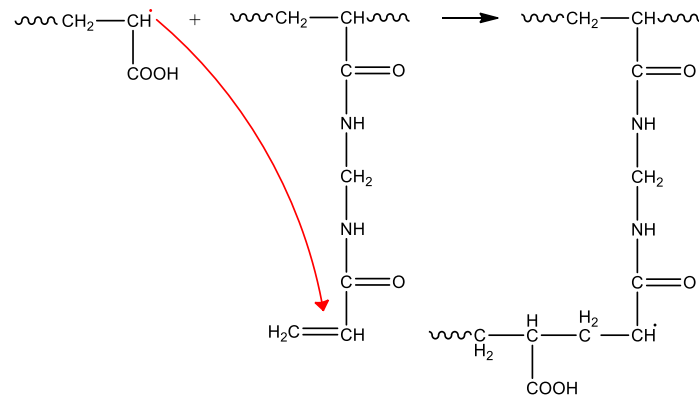
Iniciação do monómero:



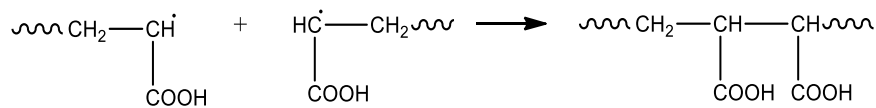
Propagação do monómero:



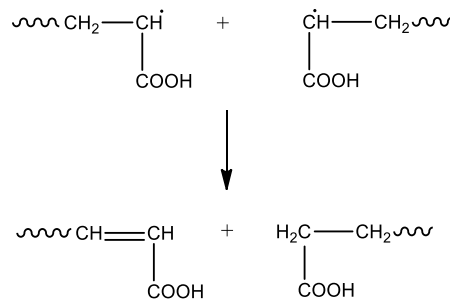
Reticulação com dupla pendente do *crosslinker*:



Terminação por combinação:



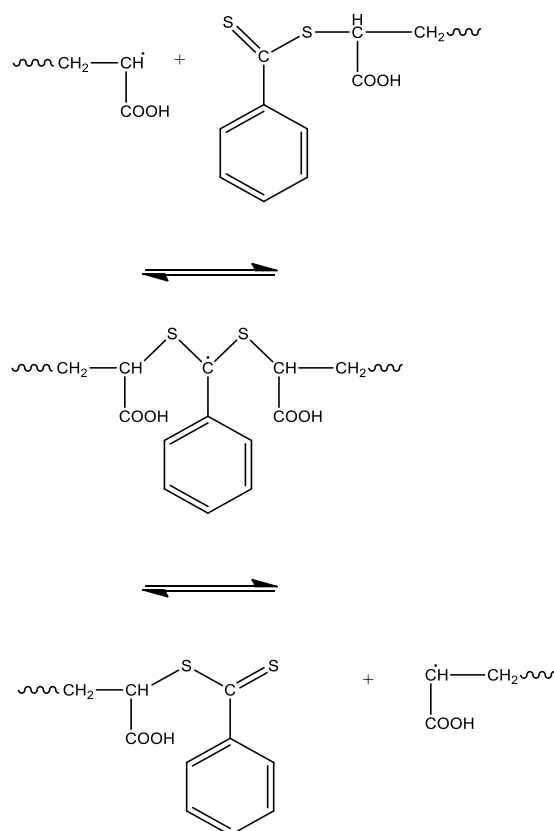
Terminação por dismutação:



## 2.6.2. Polimerização via Transferência de Cadeia Reversível por Adição-Fragmentação (RAFT)

As polimerizações radiculares controladas (CRP), grupo do qual a polimerização RAFT é uma caso particular, foram desenvolvidas nos últimos anos com o objetivo de obter produtos com maior homogeneidade (cadeias de polímero de tamanho razoavelmente próximo). A minimização das reações de terminação e transferência é fundamental neste contexto. Este efeito pode ser razoavelmente alcançado se forma induzidos mecanismos cinéticos reversíveis de desativação/ativação de radicais, como ilustrado no esquema

abaixo apresentado para a polimerização RAFT. Note-se que os restantes mecanismos fundamentais de polimerização radicalar estão também presentes no caso CRP (e portanto também em RAFT), nomeadamente a iniciação, propagação do monómero e ainda reticulação no caso não-linear. Sob o ponto de vista prático a polimerização RAFT difere da polimerização FRP apenas devido à inclusão de um agente RAFT (ex. DDMAT, CDT ou CPA) na mistura reacional inicial. A inclusão deste agente visa garantir as etapas reversíveis de desativação/ativação de radicais abaixo ilustradas. No presente trabalho, a realização de síntese RAFT visou avaliar o impacto desta técnica nas propriedades e desempenho dos hidrogéis obtidos, nomeadamente quando comparados com aqueles obtidos via FRP.



## 2.7. Polimerização em Suspensão Inversa

Polimerização em suspensão inversa, que será neste trabalho considerada na produção de micropartículas de hidrogel, é realizada considerando uma dispersão de monómeros solúveis em água numa matriz orgânica contínua. Sob o ponto de vista termodinâmico, a dispersão é instável, sendo necessário uma contínua agitação bem como a adição de

agentes de suspensão que impedem a coalescência e quebra de gotas durante a polimerização. A iniciação é a etapa responsável pela formação de radicais livres numa reação de polimerização em cadeia, podendo esta iniciar, no caso do uso de um único componente iniciador, aquando da decomposição do iniciador na fase orgânica, na fase aquosa ou em ambas as fases, dependendo da distribuição (solubilidade) do iniciador nas duas fases. Quando se usa um par redox para a iniciação, o que geralmente acontece é que o agente oxidante entra juntamente com o monómero na dispersão aquosa inversa inicial e o agente redutor é introduzido depois como uma solução aquosa, para iniciar a polimerização. Alternativamente, ambos os agentes oxidantes e redutores em solução aquosa podem ser introduzidos separadamente na dispersão aquosa do monómero na fase orgânica agitada [47]. Nas experiências aqui realizadas, utilizaram-se iniciadores de baixa solubilidade na fase orgânica tendo sido diretamente misturados com a fase aquosa. Note-se que na polimerização em solução não é utilizada a fase orgânica, ocorrendo o processo na fase aquosa que neste caso se apresenta sob a forma contínua.

## **2.8. Breve Visão de Estudos Anteriores Com Hidrogéis Inteligentes**

Para além dos estudos anteriormente citados, podem encontra-se na bibliografia vários outros trabalhos de investigação lidando com hidrogéis inteligentes e suas aplicações. Na Tabela 1 apresenta-se uma descrição sistemática de alguns desses trabalhos, organizando o seu âmbito através dos estímulos considerados (pH/temperatura/força iónica) e dos fármacos utilizados em testes de libertação. A investigação realizada neste trabalho considera abordagens similares, tentando adicionalmente estabelecer o efeito das condições de síntese dos materiais nas suas propriedades e desempenho (ex. comparação suspensão inversa/solução e FRP/RAFT).

**Tabela 1:** Descrição de alguns trabalhos de investigação sobre hidrogéis inteligentes.

<b>Conteúdo</b>	<b>Descrição</b>
Hidrogéis termosensíveis	Razão de inchamento de PNIPA em diferentes meios de polimerização ( $W_{DI}$ , acetona e etanol) [30]. Influência da T, espessura do hidrogel e de diferentes meios de polimerização ( $W_{DI}$ , acetona, etanol, isopropanol e metanol) na razão de inchamento [48]. Estudos com hidrogéis baseados em NIPA [49,50]. Foi sintetizado e caracterizado um polímero original (PNIPA) contendo redes de polímero interpenetrantes. Este quando comparado com um PNIPA convencional, apresenta maior colapso quando um hidrogel inchado numa solução a 20 °C é imerso numa solução a 50 °C [51]. Síntese de vários polímeros usando diferentes concentrações de monómero (NIPA) por FRP, a diferentes temperaturas de polimerização [52]. Foram investigadas as influências da quantidade de monómero catiónico em hidrogéis perante a razão de inchamento em água para várias soluções salinas e a diferentes temperaturas [53].
Hidrogéis com sensibilidade ao pH	Foi avaliada a razão de inchamento e o módulo de elasticidade em equilíbrio de hidrogéis preparados com várias concentrações iniciais de monómero (DMAEMA) tanto em soluções tampão como em soluções alcalinas. Para $pH < 7,7$ mostra-se que hidrogéis baseados em DMAEMA se encontram inchados, enquanto para $pH > 9,0$ se encontram colapsados. Assim, numa gama entre 7,7 e 8,0, PDMAEMA deve sofrer uma transição de fase sensível ao pH [54]. Verificou-se que a razão de inchamento dos hidrogéis no intestino pode ser controlada, evitando que os fármacos sejam libertados antes de chegar ao cólon, mostrando-se vantajoso em situações de cancro do cólon [55].
Hidrogéis com sensibilidade mista (T e pH)	Ésteres de metacrilatos, ácido acrílico e acrilamida foram usados na síntese de hidrogéis cujo inchamento pode ser controlado no intestino delgado [56].

Hidrogéis com sensibilidade a forças iónicas	Foi verificado o comportamento de uma série de hidrogéis termosensíveis em diferentes soluções salinas. A T de transição do hidrogel é afetada pela adição de NaCl [57].
Testes de libertação de cafeína	Para T acima da temperatura de transição, a razão de inchamento e a percentagem de cafeína libertada aumentou [58]. O efeito da T sobre a razão de inchamento e libertação do fármaco é mais influente que o efeito dos meios de polimerização (em $W_{DI}$ , acetona e etanol) [30]. Foram analisados diversos perfis de libertação do fármaco para diferentes meios de polimerização [48].
Testes de libertação de ibuprofeno	Preparação de hidrogéis PNIPA contendo grupos hidrofóbicos. Avaliação do inchamento na presença de ibuprofeno [49].
Testes de libertação de isoniazida	Estudos <i>in vitro</i> mostraram que a libertação do fármaco, num hidrogel com sensibilidade à T e pH, em meio ácido (pH=1,2) ocorre quase totalmente, ao contrário do que acontece em meio neutro (pH=7,4), isto devido à dissociação de ligações de hidrogénio [56].
Testes de libertação de 5-fluoruracilo	Realizou-se uma curva de calibração padrão em função da concentração de 5-FU e verificaram-se posteriormente as concentrações libertadas do mesmo, tudo através de espectroscopia UV com um $\lambda = 266$ nm. Verificou-se que o fármaco foi libertado mais rapidamente em temperaturas mais elevadas [50]. Um polímero PNIPA, contendo redes interpenetrantes, carregado com 5-FU, a T mais baixa apresenta uma libertação controlada pela difusão de moléculas de água na rede do hidrogel. A uma T mais elevada, o 5-FU no interior do hidrogel não pode difundir para o meio devido a uma libertação brusca causada pela libertação do fármaco na superfície do hidrogel [51].

## Capítulo 3 – Síntese de Hidrogéis em Suspensão Inversa e em Solução

### 3.1. Introdução

Neste capítulo apresenta-se uma das partes experimentais envolvidas na realização deste trabalho: a síntese de hidrogéis em suspensão inversa e em solução. Um dos objetivos deste trabalho era a demonstração da viabilidade experimental de síntese de diferentes tipos de hidrogéis, nomeadamente aniónicos, catiónicos, anfotéricos ou neutros. Atendendo às diferentes classes de monómeros envolvidos, as condições de síntese (concentrações, pH, temperatura, iniciador, etc.) foram ajustadas a cada caso específico. Demonstrou-se assim que é possível obter partículas de diferentes tipos de hidrogéis inteligentes através de polimerização em suspensão inversa. De forma alternativa, mostrou-se que a polimerização em solução permite obter esses materiais sob a forma não-particulada. Numa outra vertente, foi também mostrada a possibilidade de realizar a síntese de hidrogéis inteligentes considerando duas técnicas de polimerização diferentes: FRP e RAFT. Estes estudos comparativos FRP/RAFT tentam contribuir para linhas de investigação abertas nos anos mais recentes em que se faz a avaliação de técnicas de polimerização controladas (das quais RAFT é um caso particular) como meio de produzir materiais com propriedades por medida. Os estudos realizados mostraram também a necessidade de ajustar convenientemente as condições de síntese com RAFT (ex. alteração da temperatura, solvente, etc.) para que os produtos possam ser obtidos de forma eficiente.

### 3.2. Materiais

As estruturas químicas e propriedades dos diferentes materiais usados neste trabalho encontram-se detalhadas nas Tabelas 7 a 13 dos Anexos deste documento. Os reagentes foram usados conforme recebidos de forma a tentar reproduzir a prática industrial na síntese de polímeros. Os químicos fundamentais para a síntese, caracterização e teste dos hidrogéis foram adquiridos à *Sigma-Aldrich* [6, 59-69].

### 3.3. Síntese de Hidrogéis em Suspensão Inversa

Com o objetivo de obter partículas de hidrogéis sensíveis a diferentes estímulos, foi realizado um conjunto de polimerizações em suspensão inversa que se descreve de forma geral na Tabela 2. Nessa tabela, os parâmetros apresentados têm os seguintes significados:

- A concentração dos monómeros expressa a razão entre a massa de monómeros e a massa de monómeros + massa de solvente, ou seja:

$$C_M = \frac{m_M}{m_M + m_S} \quad (1)$$

- A razão  $M1/(M1+M2)$  expressa a fração molar do monómero  $M1$  na mistura  $M1+M2$ , ou seja:

$$\alpha_{M1} = \frac{n_{M1}}{n_{M1} + n_{M2}} \quad (2)$$

- A razão  $CR/(M1+M2)$  expressa a razão molar do reticulante relativamente à mistura  $M1+M2$ , ou seja:

$$\alpha_{CR} = \frac{n_{CR}}{n_{M1} + n_{M2}} \quad (3)$$

- A razão  $I/(M1+M2)$  expressa a razão molar do iniciador relativamente à mistura  $M1+M2$ , ou seja:

$$\alpha_I = \frac{n_I}{n_{M1} + n_{M2}} \quad (4)$$

- A razão  $I/CAT$  expressa a razão entre a massa de iniciador e de catalisador, ou seja:

$$r_{CAT} = \frac{m_{CAT}}{m_I} \quad (5)$$

- A razão RAFT/I expressa a razão molar entre agente RAFT e iniciador, ou seja:

$$r_{RAFT} = \frac{n_{RAFT}}{n_I} \quad (6)$$

- A neutralização expressa a fração molar de grupos ácido do monómero que são neutralizados com a base, ou seja:

$$\alpha_N = \frac{n_N}{n_A + n_N} \quad (7)$$

- Na formação da suspensão inversa, a razão W/O representa a razão volumétrica entre fase aquosa e solvente orgânico enquanto que S/O representa a razão entre a massa de estabilizador e de fase orgânica, ou seja:

$$r_V = \frac{V_A}{V_{ORG}} \quad (8)$$

$$r_S = \frac{m_e}{m_{ORG}} \quad (9)$$

No programa experimental de síntese em suspensão inversa descrito na Tabela 2 foram consideradas diferentes combinações de monómeros que potencialmente pudessem gerar partículas de hidrogéis estimuláveis por diferentes parâmetros. Foram também usadas diferentes condições de reticulação e iniciação de forma a tentar avaliar o efeito das condições de operação na arquitetura molecular e desempenho dos materiais produzidos.

Como monómeros principais foram considerados NIPA (gerador de redes de polímero sensíveis à temperatura), DMAEMA (gerador de hidrogéis catiónicos), AA e MAA (geradores de hidrogéis aniônicos), NVP (gerador de hidrogéis neutros) e ainda DMA e AAm que são monómeros vinílicos contendo grupos amida e que geram produtos com importância em processos biológicos/biomédicos devido à sua compatibilidade com água (a PAAm é um flocculante poderoso e é também usado na separação de proteínas, o PDMA pode ser estimulado pelo pH e também pela temperatura, embora numa gama superior ao PNIPA).

A possibilidade de sintetizar hidrogéis com sensibilidade combinada a múltiplos parâmetros foi explorada considerando comonómeros na mistura inicial. Em concreto (ver Tabela 2), foram sintetizadas redes de polímero baseadas em NIPA/AA e NIPA/MAA (sensibilidade combinada à temperatura/pH) e DMAEMA/MAA (rede anfotérica carregando cargas negativas e positivas em simultâneo).

Neste plano experimental, foram também considerados reticulantes com diferentes funcionalidades, nomeadamente MBAm (duas ligações vinílicas gerando pontos de reticulação tetrafuncionais), TMPTA (três ligações duplas gerando pontos de reticulação hexafuncionais) e TAO (quatro ligações duplas gerando pontos de reticulação octafuncionais). Pretendeu-se desta forma avaliar o efeito da densidade de reticulação da rede no seu desempenho. A razão molar entre reticulante e monómeros variou entre 1 (0% de reticulante foi testado para a síntese de NVP linear) e 5% (ver Tabela 2), que são valores nas gamas geralmente consideradas para a produção de hidrogéis levemente reticulados.

Foram usados diferentes sistemas de iniciação em função da gama de temperaturas e solvente considerado na síntese: APS/TEMED para polimerização em água a baixa temperatura (ex. 20 °C), V50 para polimerização em solução aquosa a temperatura mais elevada (ex. 50 °C) e AIBN nas polimerizações em solvente orgânico a elevada temperatura (ex. 70 °C). A razão entre iniciadores e monómeros foi ajustada de modo a tentar garantir uma razoável velocidade de polimerização (ex. conversão superior a 80% com 6 horas de reação). Note-se que as concentrações de monómeros usados têm também aqui um grande impacto e podem ser condicionadas pelos respetivos limites de solubilidade (ex. parâmetro importante com NIPA em água). Em alguns casos foi realizada polimerização na ausência de solvente (ver Tabela 2) mas os produtos assim obtidos apresentam-se geralmente num estado vítreo mais difícil de manusear.

A neutralização de monómeros iónicos (particularmente AA e MAA) é um aspeto importante na sua polimerização dado que a velocidade de reação é fortemente afetada por este parâmetro [61]. Nos casos especificados na Tabela 2, realizou-se a neutralização prévia dos monómeros utilizando a quantidade de NaOH necessária para atingir o valor de  $\alpha_N$  pretendido. Nos casos em que TEMED foi usado como catalisador (sistema de iniciação aquoso APS/TEMED) o valor  $r_{CAT} = 1$  foi adotado seguindo estudos prévios reportados na literatura [6].

Como foi atrás mencionado, nos anos recentes tem sido explorado o uso de técnicas de polimerização controladas (CRP) como tentativa de obter polímeros solúveis e géis com

estrutura pré-definida, gerando também eventualmente materiais com propriedades por medida (ex. projetar a razão de inchamento de um hidrogel). Note-se que nas polimerizações radicalares clássicas (FRP), devido ao impacto das reações de terminação e outros mecanismos cinéticos secundários (ex. reações intramoleculares de ciclização), os polímeros e géis resultantes apresentam em geral uma estrutura bastante heterogénea (população incluindo moléculas com tamanhos muito distintos). As técnicas CRP permitem, em princípio, aumentar a homogeneidade dos produtos, ou seja, gerar uma população com moléculas muito iguais entre si. Em trabalhos de investigação recentes [59, 60] tem sido discutido se esse aumento de homogeneidade tem um reflexo claro nas propriedades dos materiais sintetizados. Essa linha de investigação foi aqui explorada através da síntese RAFT de hidrogéis em suspensão inversa e em solução (como à frente apresentado). Sob o ponto de vista químico, na polimerização RAFT inclui-se para além dos componentes FRP um agente de transferência (ex. DDMAT, CDT ou CPA como detalhado na Tabela 2). No entanto, muitas vezes, há a necessidade de alterar as condições de síntese: baixa solubilidade dos agentes RAFT em muitos solventes (particularmente em água) e forte diminuição da velocidade de reação são algumas dificuldades que devem ser consideradas. Essas alterações estão detalhadas na Tabela 2, onde se descreve, por exemplo, o uso de um solvente orgânico e temperatura de polimerização elevada com DDMAT e CPA. Para além da escolha do agente RAFT adequado, a sua quantidade inicial é também um parâmetro importante pois condiciona o tamanho médio das cadeias do polímero produzido (são obtidas cadeias mais pequenas com o aumento da quantidade de agente RAFT). Este aspeto é importante na síntese de hidrogéis pois a sua razão de inchamento (propriedade fundamental nas aplicações destes materiais) é fortemente influenciada por este parâmetro [59, 60]. Neste trabalho foram usados valores de  $r_{RAFT}$  na gama 1,6 a 9 (ver Tabelas 2 e 3). Note-se que um valor de  $r_{RAFT}$  próximo de zero reproduz uma polimerização FRP enquanto que o parâmetro  $r_{RAFT}$  demasiado elevado (ex. 10) conduz em geral a uma polimerização demasiado lenta (necessidade de vários dias de reação para obtenção de produto).

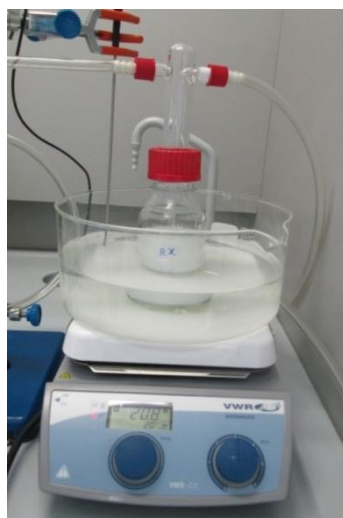
Para promover a formação da dispersão, conforme detalhado na Tabela 2, foram usados  $r_V = 1/3$  ou  $r_V = 1/5$  e  $r_S = 0,1\%$ . Nestas condições foi possível produzir partículas de hidrogel mantendo boas condições de agitação do reator durante todo o processo [6].

### 3.3.1. Procedimento Experimental

De seguida descreve-se um processo de síntese típico usado na produção de hidrogéis em suspensão inversa. Inicialmente, prepararam-se dois conjuntos de 10 frascos, um dos conjuntos com hidroquinona (HQ) e metanol e outro com HQ e acetona. Estes frascos são usados para recolha de amostras para análise posterior por SEC e gravimetria, respetivamente. Usou-se uma balança de precisão para efetuar as pesagens de HQ e uma pipeta volumétrica para medir as quantidades de metanol e acetona. A presença de HQ é importante uma vez que permite inibir a reação, possibilitando a posterior análise no meio reacional a diferentes instantes de polimerização através de SEC. De seguida efetuaram-se diversas pesagens, nomeadamente do monómero (NIPA), da  $W_{DI}$ , do catalisador da reação (TEMED), do iniciador (APS), do reticulante (MBAm) e do emulsionante (SPAN 80). Além disso, mediram-se 150 mL de ciclohexano (CH), que foi usado para manter a reação em suspensão inversa. Com o objetivo de promover a dissolução do monómero, colocou-se num sistema de ultrassons a massa de monómero previamente pesada e  $W_{DI}$ . De seguida colocou-se num frasco o emulsionante (SPAN 80) a dissolver com o ciclohexano usando para isso uma placa de aquecimento a uma temperatura de 20 °C. Para a obtenção de uma solução homogénea fez-se a agitação deste sistema com uma barra magnética. Posteriormente, dissolveu-se tanto o reticulante como o sistema de iniciação (APS+TEMED) em  $W_{DI}$ . O frasco contendo o monómero foi borbulhado com argón para remoção do  $O_2$ , uma vez que este pode reagir com o iniciador, diminuindo a taxa de conversão de monómero em polímero. Imediatamente antes de iniciar a reação adicionou-se à solução aquosa de monómeros o sistema de iniciação (APS+TEMED). Iniciou-se a síntese do hidrogel, a uma temperatura especificada (ex. 20 °C, ver também a Figura 24), colocando a mistura aquosa de monómero e iniciador num frasco agitado contendo ciclohexano e emulsionante, promovendo assim a formação de uma suspensão inversa de uma solução aquosa (fase dispersa) em óleo (fase contínua).

A duração típica de cada experiência foi de 6 horas. Ao longo de cada experiência, recorrendo a uma pipeta Pasteur foram recolhidas amostras com cerca de 2 mL tanto para os frascos com HQ e metanol como para os frascos com HQ e acetona aos 0, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos (Figura 25), colocando os frascos para análise por SEC no frio (Figura 27). No final da reação, por decantação efetuou-se a

separação do ciclohexano da suspensão de partículas de hidrogel. Por último, adicionou-se água quente à suspensão (nas polimerizações com NIPA) o que originou a precipitação do polímero (Figura 26). Com outros monómeros, o polímero pode ser facilmente precipitado à temperatura ambiente usando acetona ou metanol.



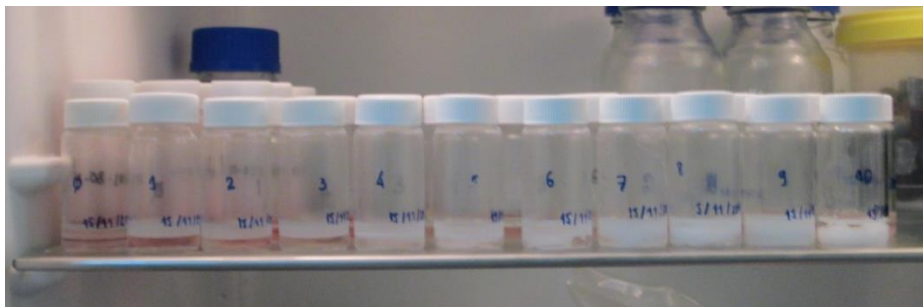
**Figura 24:** Ilustração fotográfica do sistema de reação usado na síntese de hidrogéis por suspensão inversa. O uso de um agitador magnético permite criar/manter uma dispersão de fase aquosa na fase orgânica (fase contínua). Desta forma, são produzidas partículas de hidrogel mantendo-se a boa agitação do reator. O aumento significativo da viscosidade quando os hidrogéis equivalentes são sintetizados em solução impede a boa agitação do reator durante todo o processo. O difusor existente na instalação experimental foi usado para borbulhar um gás inerte (Azoto ou Árgon por exemplo) e desta forma manter o meio reacional isento de oxigénio (inibidor de polimerização).



**Figura 25:** Ilustração fotográfica do processo de recolha de amostras com tempos de reação diferentes durante o processo de síntese de hidrogéis por suspensão inversa. A precipitação em metanol, acetona, por exemplo, e eventual aquecimento dos produtos de reação permite realizar o seu isolamento de forma simples (ver também Figura 26).



**Figura 26:** Ilustração fotográfica do processo de precipitação do hidrogel final obtido por polimerização em suspensão inversa. A precipitação da mistura reacional em solventes como acetona ou metanol permite facilmente isolar os produtos (neste caso na forma particulada) na grande maioria dos casos químicos diferentes aqui estudados. Para hidrogéis de NIPA, este processo é mais eficientemente realizado através da precipitação em solvente quente (ex. 50 °C) dado o colapso destes produtos por efeito do aumento da temperatura. Procedimentos semelhantes permitem isolar os hidrogéis produzidos em solução.

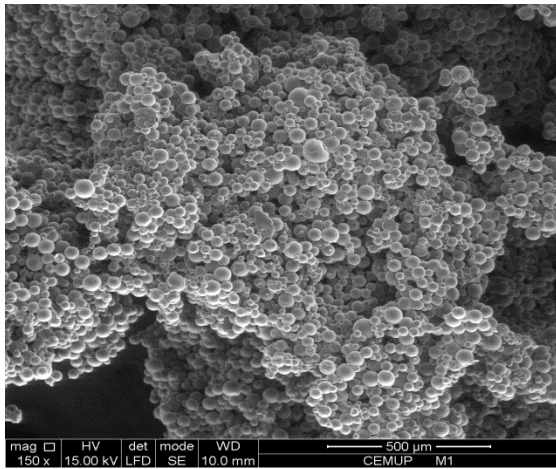


**Figura 27:** Ilustração fotográfica de um conjunto de amostras do meio reacional retiradas a diferentes tempos de polimerização. O processo de amostragem ao longo da polimerização é usado para obter medições cinéticas da formação de produtos (ex. através da injeção da fração solúvel em GPC). A comparação visual das amostras permite também avaliar de forma simples a quantidade de hidrogel formada em diferentes instantes de polimerização.

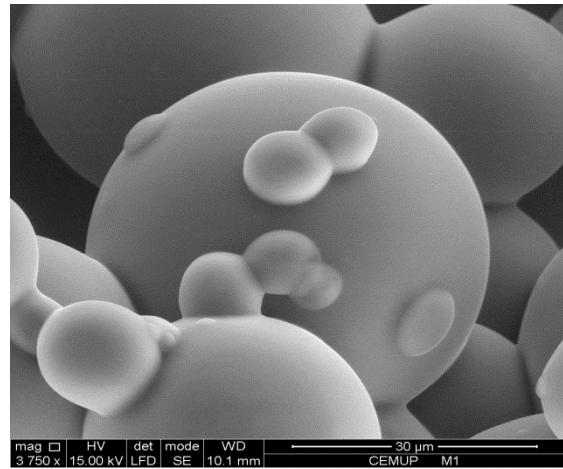
Nas Figuras 129 a 137 dos Anexos visualizam-se fotograficamente alguns passos do procedimento experimental anteriormente descrito.

### **3.3.2. Análise por SEM das Partículas de Hidrogel Obtidas por Suspensão Inversa**

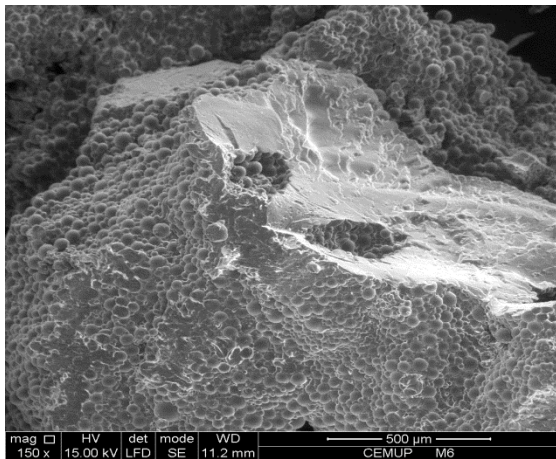
Na Figura 28 são apresentados alguns exemplos de micrografias SEM (microscopia eletrónica de varrimento) referentes a partículas de diferentes tipos de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. Em alguns casos pode observar-se a formação de material fundido devido ao tratamento dos géis após polimerização (ex. precipitação e processo de secagem) [59]. É possível que a formação deste material fundido altere o padrão de incubação/libertação de fármacos que seria de esperar com partículas de hidrogel individualizadas. A operação em micro-reator tubular será uma opção que poderá melhorar a morfologia das partículas de hidrogel obtidas (distribuição homogénea de tamanhos de partícula) e impedir eventualmente a formação de domínios fundidos. As análises por microscopia eletrónica de varrimento apresentadas na Figura 28 foram realizadas no Centro de Microscopia da Universidade do Porto (CEMUP).



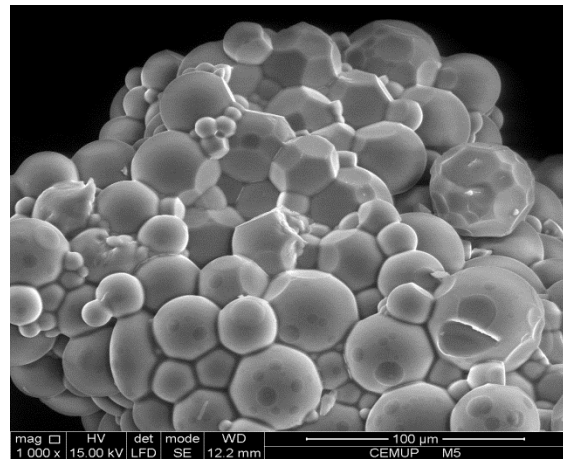
(a)



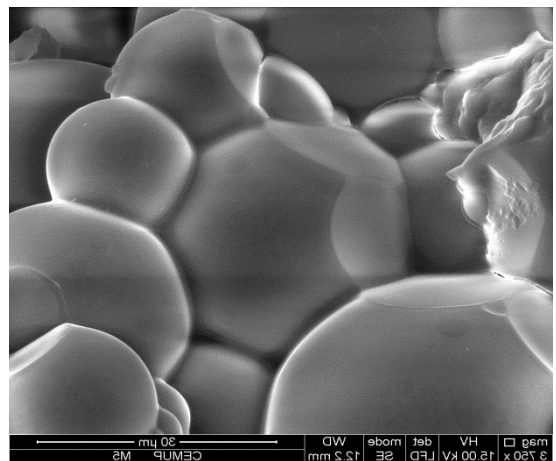
(b)



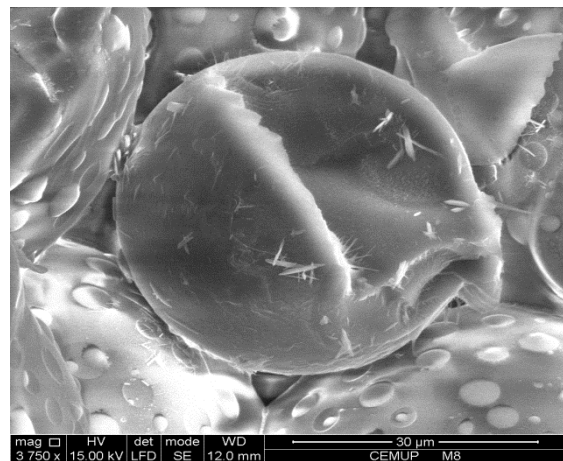
(c)



(d)



(e)



(f)

**Figura 28:** Micrografias SEM de partículas de diferentes hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. (a) e (b) são referentes a um hidrogel AA/MBAm. (c) é referente a um hidrogel NIPA/MBAm. (d) e (e) são referentes a um hidrogel NIPA/AA/MBAm. (f) é referente a um hidrogel DMA/MBAm.

### 3.4. Síntese de Hidrogéis em Solução

Os hidrogéis sob a forma de partículas que são obtidos através de polimerização em suspensão inversa (aspecto morfológico nas Tabelas 21 a 23 dos Anexos) apresentam vantagens importantes em algumas aplicações práticas, nomeadamente porque à partida não necessitam de ser moídos (processo que sob o ponto de vista industrial é realizado com os hidrogéis sintetizados em solução), podem ser secos com maior facilidade (partículas dispersas com maior taxa de transferência de massa e calor) e nos processos de libertação de fármacos (por exemplo) geram também uma menor resistência à transferência de massa. No entanto, a presença de solventes orgânicos e agentes de dispersão no seu processo de síntese obriga a difíceis processos de limpeza dos produtos finais que não podem ser desta forma usados diretamente em aplicações biológicas. Note-se que em alguns casos é possível a polimerização dos próprios agentes de dispersão na interface óleo/água e os hidrogéis finais podem conter uma fase não solúvel em água. Estes factos, e o pequeno tamanho das partículas obtidas, geram dificuldades na reprodutibilidade do comportamento dos hidrogéis sintetizados em suspensão inversa, nomeadamente no seu fenómeno de inchamento e libertação de fármacos (por exemplo). Estes fenómenos serão analisados nos dois capítulos seguintes deste trabalho.

A forma óbvia de eliminar as desvantagens atrás descritas para os hidrogéis de suspensão inversa é realizar a síntese diretamente em solução aquosa. O procedimento experimental genérico é em tudo semelhante ao atrás descrito sem a presença da fase contínua (fase orgânica) e do agente de dispersão. Na Tabela 3 encontram-se detalhadas as condições experimentais usadas neste trabalho para sintetizar hidrogéis inteligentes em solução (aspecto morfológico na Figura 142 dos Anexos). Foram também produzidos materiais através das técnicas FRP e RAFT. Note-se que, para além das desvantagens atrás mencionadas para os produtos em solução (dificuldade de secagem, maior resistência à transferência de massa), a síntese de géis em solução é também um processo difícil (nomeadamente em processos industriais) devido à enorme viscosidade que é gerada nos reatores. As dificuldades de agitação diminuem a taxa de dissipação de calor, resultando em geral em processos não isotérmicos (aumento substancial da temperatura de reação) com impacto importante nas propriedades dos produtos.

**Tabela 2:** Condições utilizadas na síntese em suspensão inversa de hidrogéis inteligentes.

HG	M1	M2	Reticulante CR	Iniciador I	Catalisador CAT	Agente RAFT	Solv.	Concentração Monômeros	Razão M1/(M1+M2)	Razão CR/(M1+M2)	Razão I/(M1+M2)	Temperatura Síntese	Razão I/CAT	Razão RAFT/I	Neutralização	Polimerização
HG1	NIPA	-	MBAm	APS	TEMED	-	Água	10%	100%	1%	0,25%	20 °C	1	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG2	NIPA	AA	MBAm	APS	TEMED	-	Água	14,5%	50%	1%	0,25%	20 °C	1	-	80%	Suspensão Inversa (W/O=1/4.4, S/O=1%)
HG3	NIPA	MAA	MBAm	APS	TEMED	-	Água	13,8%	67%	1%	0,25%	20 °C	1	-	84%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG4	NIPA	MAA	MBAm	APS	TEMED	-	Água	11,1%	88%	1%	0,26%	20 °C	1	-	50%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG5	NIPA	-	TAO	APS	TEMED	-	Água	10%	100%	1%	0,25%	20 °C	1	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG6	NIPA	-	TMPTA	APS	TEMED	-	Água	10%	100%	1%	0,25%	20°C	1	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG7	NIPA	-	MBAm	APS	TEMED	-	Água	10%	100%	2%	0,26%	20°C	1	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG8	DMAEMA	-	EGDMA	AIBN	-	-	-	100%	100%	5%	0,5%	60°C	-	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/3, S/O=0%)
HG9	DMAEMA	-	EGDMA	V50	-	-	-	73%	100%	5%	0,3%	60°C	-	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/3, S/O=0%)
HG10	AA	-	MBAm	AIBN	-	DDMAT	DMF	37,9 %	100%	1%	0,04%	70°C	-	8,5	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG11	NIPA	-	MBAm	AIBN	-	DDMAT	DMF	30,0%	100%	1%	0,04%	70°C	-	9,0	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG12	AA	-	MBAm	V50	-	CPA	Água	43,3%	100%	2%	0,11%	50°C	-	1,83	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG13	DMAEMA	MAA	MBAm	V50	-	CPA	Água	50,3%	35%	2%	0,14%	50°C	-	1,94	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG14	NIPA	-	MBAm	AIBN	-	CDT	DMF	21%	100%	2%	0,35%	60°C	-	2,07	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG15	NIPA	AA	MBAm	AIBN	-	CDT	DMF	21,7%	88%	1%	0,36%	60°C	-	1,99	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG16	NVP	-	-	V50	-	-	Água	25%	100%	0%	0,03%	70°C	-	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG17	NVP	-	MBAm	V50	-	-	Água	25%	100%	1%	0,03%	70°C	-	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG18	NIPA	-	MBAm	APS	TEMED	CPA	Água	14,9%	100%	1%	0,26%	20°C	-	2,11	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG19	DMA	-	MBAm	APS	TEMED	-	Água	33,4%	100%	1%	0,27%	20°C	-	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)
HG20	AAm	-	MBAm	APS	TEMED	-	Água	14,9%	100%	1%	0,22%	20°C	-	-	0%	Suspensão Inversa (W/O=1/5, S/O=1%)

**Tabela 3:** Condições utilizadas na síntese em solução de hidrogéis inteligentes.

Hidrogéis Sintetizados em Solução															
HGS	Monómero 1	Monómero 2	Reticulante CR	Iniciador I	Catalisador CAT	Agente RAFT	Solv.	Diluição dos monômeros	Razão M1/(M2+M1)	Razão CR/(M1+M2)	Razão I/(M1+M2)	Temp. Síntese	Razão I/CAT	Razão RAFT/I	Neutralização
HGS1	NIPA	-	MBAm	APS	TEMED	-	Água	17,8%	100%	1,0%	0,5%	20 °C	1	-	0%
HGS2	AA	-	MBAm	APS	TEMED	-	Água	42,6%	100%	1,0%	0,5%	20 °C	1	-	60%
HGS3	DMAEMA	-	MBAm	V50	-	-	Água	40,0%	100%	0,5%	0,5%	50 °C	-	-	0%
HGS4	AA	-	MBAm	V50	-	CPA	Água	46,5%	100%	2,1%	0,12%	50 °C	-	1,69	0%
HGS5	DMAEMA	-	MBAm	V50	-	CPA	Água	175,9%	100%	2,3%	0,05%	50 °C	-	2,08	0%
HGS6	DMAEMA	MAA	MBAm	V50	-	-	Água	46,2%	52,3%	2,0%	0,25%	50 °C	-	-	0%
HGS7	DMAEMA	MAA	MBAm	V50	-	CPA	Água	177,0%	50,0%	2,0%	0,05%	50 °C	-	2,0	0%

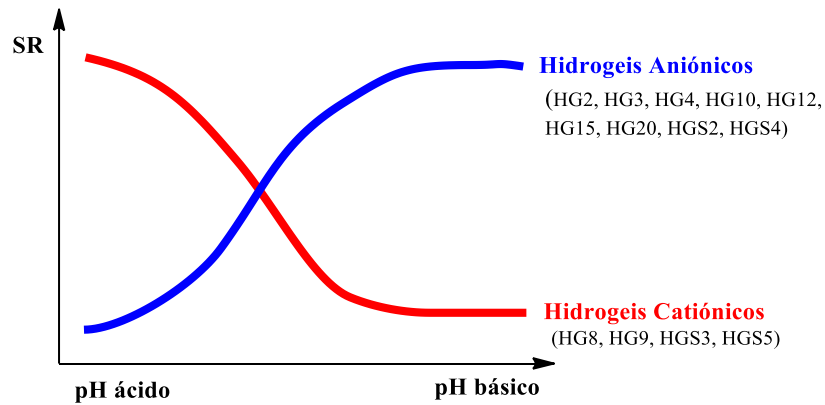
# Capítulo 4 – Testes de Caracterização da Sensibilidade dos Hidrogéis

## 4.1. Introdução

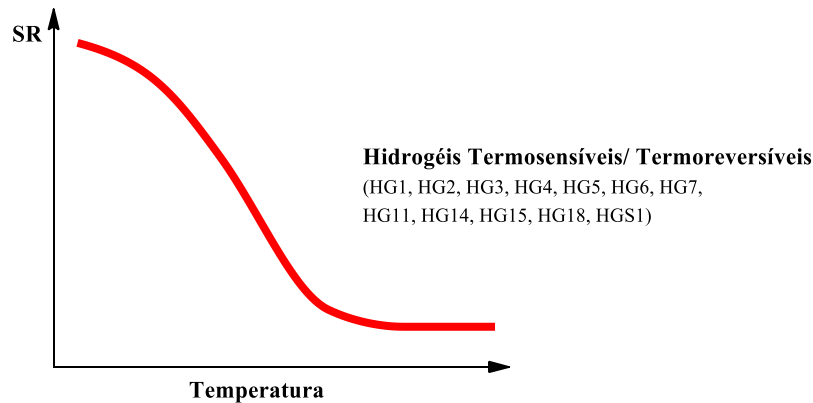
Nesta secção apresentam-se os resultados experimentais relativos aos testes de caracterização da sensibilidade de hidrogéis que foram realizados com os materiais sintetizados. Foram selecionados casos representativos de hidrogéis aniónicos, catiónicos, anfotéricos e sensíveis à temperatura e efetuadas medições da variação da sua razão de inchamento (SR) estimulada por alterações das condições das soluções aquosas onde se encontravam colocados, nomeadamente pH, temperatura, força iónica ou presença de solvente desidratante. Com estas medições pretendeu-se avaliar o efeito das condições de síntese na sensibilidade de materiais obtidos, nomeadamente o efeito da composição química inicial (ex. estrutura química e propriedades dos monómeros usados) e da técnica de síntese usada (comparação FRP/RAFT).

Na Figura 29 faz-se a representação esquemática idealizada para a variação da razão de inchamento de hidrogéis aniónicos e catiónicos em soluções aquosas com diferentes valores de pH. Na mesma figura é feita a catalogação nessas duas famílias de alguns hidrogéis sintetizados neste trabalho. Na Figura 30 é apresentada uma esquematização análoga para hidrogéis termosensíveis. Um dos objetivos das medições experimentais realizadas foi avaliar se esses comportamentos ideais se confirmam na prática. Por essa razão, nas representações gráficas que à frente serão apresentadas, para além dos valores experimentais de SR, foram também incluídas linhas de tendência que tentam reproduzir esse comportamento ideal. Na Figura 31 faz-se uma antevisão do comportamento que foi observado com hidrogéis potencialmente sensíveis em simultâneo ao pH e à temperatura. De facto, como se mostrará à frente, para os hidrogéis sintetizados neste trabalho assinalados nessa figura foi observada uma muito maior sensibilidade ao pH comparativamente à temperatura.

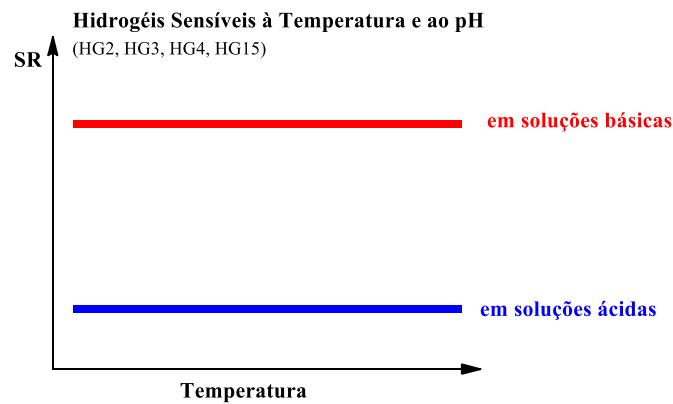
Os testes aqui apresentados visaram também identificar os hidrogéis com maior grau de sensibilidade às alterações impostas de modo a tentar potenciar esses materiais nos testes de libertação de fármacos que serão descritos no próximo capítulo deste trabalho.



**Figura 29:** Representação esquemática idealizada para a variação da razão de inchamento de hidrogéis aniônicos e catiônicos em soluções aquosas com diferentes valores de pH. É feita também a catalogação nessas duas famílias de alguns hidrogéis sintetizados neste trabalho.



**Figura 30:** Representação esquemática idealizada para a variação da razão de inchamento de hidrogéis termosensíveis em soluções aquosas com diferentes valores de temperatura. É feita também a catalogação nessa família de alguns hidrogéis sintetizados neste trabalho.



**Figura 31:** Representação esquemática da variação da razão de inchamento observada com hidrogéis potencialmente sensíveis em simultâneo ao pH e à temperatura. Para os hidrogéis sintetizados neste trabalho assinalados na figura foi observada uma muito maior sensibilidade ao pH comparativamente à temperatura.

## 4.2. Materiais

Para a realização dos testes de caracterização dos hidrogéis produzidos, assim como na realização de alguns testes de libertação controlada de fármacos, utilizou-se água desionizada ( $W_{DI}$ ), recolhida a partir do aparelho *Barnstead-Easy pure LF*. A resistividade da água desionizada é de 18,3 M $\Omega$ -cm.

Utilizaram-se soluções tampão (1,2 e 7,5) para a realização dos testes de sensibilidade mista à variação do pH em estado de equilíbrio e nos testes de libertação controlada de fármacos e soluções tampão (1 a 14) nos testes de sensibilidade dos hidrogéis à variação do pH a temperatura constante em estado de equilíbrio. Estas soluções tampão foram previamente preparadas, recorrendo a protocolos existentes. Os valores efetivos do pH das soluções aquosas preparadas foram medidos usando um eletrodo pH (marca *Schott*).

## 4.3. Procedimento Experimental

O procedimento experimental adotado nos diferentes testes é muito semelhante. Prepararam-se os banhos de água necessários às temperaturas requeridas, com auxílio de placas de aquecimento e respetivos termopares. Esperou-se até à estabilização da temperatura nos valores selecionados. Pesou-se o hidrogel (ex. cerca 0.2 g), recorrendo a uma balança de precisão. Posteriormente pesou-se um filtro de papel, anteriormente recortado, molhado em água desionizada ou molhado com uma dada solução aquosa com o valor de pH selecionado. Posto isto iniciou-se o teste. Num *gobelet* de 100 mL, colocam-se cerca de 80 mL de  $W_{DI}$  ou de solução com o pH escolhido, posteriormente, mergulhou-se o filtro no líquido e colocou-se a quantidade de hidrogel pesada no filtro que continha já no seu interior o meio aquoso pretendido. O conjunto filtro + hidrogel foi recolhido em intervalos regulares (ex. a cada hora), sendo o excesso de água ou solução de pH retirada do papel de filtro para proceder à pesagem do conjunto numa balança de precisão. À massa total pesada fez-se a subtração da massa do papel de filtro molhado (pesado no início do processo), chegando-se desta à massa de hidrogel inchado (água contida no hidrogel + massa de hidrogel). Ao dividir esta massa pela massa inicial de polímero obtém-se a sua razão de inchamento. Na Figura 32 apresenta-se a ilustração do procedimento acima descrito (ver também Figuras 144 a 147 dos Anexos).

$$SR = \frac{\text{Massado Hidrogel Inchado}}{\text{Massado Hidrogel Seco}} \quad (10)$$

Em geral, considerou-se o período de tempo de cerca de 1 hora como sendo suficiente para que fosse atingido o estado de equilíbrio (saturação do hidrogel com alcance do seu inchamento máximo). A obtenção da dinâmica de inchamento foi realizada de forma semelhante realizando medições de SR a tempos mais curtos, conforme será à frente descrito.

Deve notar-se que alguns dos dados experimentais que serão apresentados nesta secção apresentam uma elevada dispersão, tendo também sido observada alguma falta de reprodutibilidade nas medições. Estes factos são em parte explicados devido à variação na massa de hidrogel entre medições (partículas pequenas que passam através do filtro) e na dificuldade em remover exatamente o mesmo excesso de água presente no filtro em todos os momentos de medição.



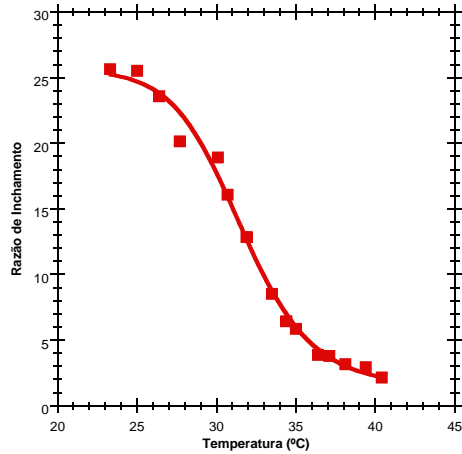
**Figura 32:** Ilustração fotográfica de um teste típico de caracterização da sensibilidade de hidrogéis. O procedimento geral consiste na colocação de uma massa pré-pesada de hidrogel seco (ex. 0,2 g) numa solução aquosa (ex. 80 mL) com as condições de estímulo pretendidas (seleção da temperatura, pH, força iónica, etc.). A pesagem do hidrogel inchado, para determinação da razão de inchamento, a diferentes instantes de tempo pré-definidos permite obter a sensibilidade dinâmica do material nas condições seleccionadas. A sensibilidade de equilíbrio é avaliada após um relativamente longo período de tempo (ex. 1 hora). A alteração das condições de estímulo permite avaliar a sensibilidade do material à variação dos parâmetros pretendidos.

### 4.3.1. Sensibilidade de Equilíbrio dos Hidrogéis à Variação da Temperatura

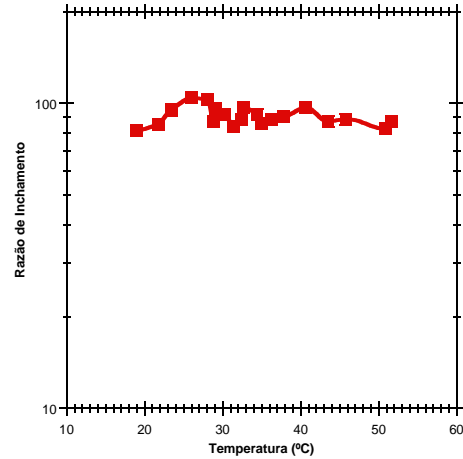
Na Figura 33 apresenta-se a variação da razão de inchamento (SR) de equilíbrio em função da temperatura, observada para o hidrogel baseado em NIPA (hidrogel HG1 na Tabela 2). Cada uma dessas medições (cada valor de temperatura) foi realizada de acordo com o procedimento experimental atrás descrito. A repetição deste procedimento

para diferentes valores pré-fixados de temperatura permitiu medir a sensibilidade do hidrogel à variação da temperatura do meio aquoso circundante, conforme se mostra na Figura 30. É possível observar que este material se apresenta inchado a temperaturas na gama de 20 °C (razão de inchamento da ordem de 20) e que a sua razão de inchamento diminui com o aumento de temperatura, verificando-se o colapso do material (contração com razão de inchamento da ordem de 3) a cerca de 37 °C. A elevada sensibilidade deste hidrogel à temperatura (numa gama compatível com a fisiologia do corpo humano) possibilita a sua consideração em aplicações biomédicas, nomeadamente na libertação controlada de fármacos (como será explorado à frente neste trabalho).

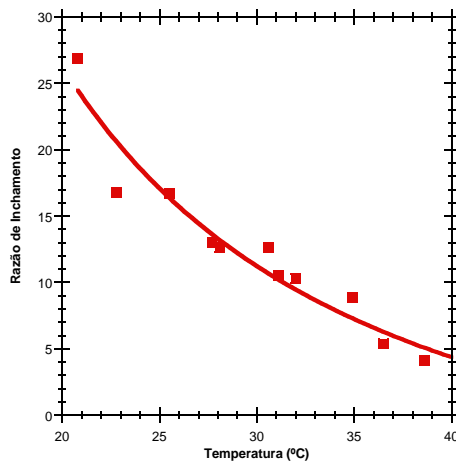
Na Figura 34 apresentam-se os resultados equivalentes para o hidrogel HG2. É de assinalar o aumento significativo da razão de inchamento de equilíbrio do material (para cerca de 100) mas a perda da sua sensibilidade à variação da temperatura. Estes resultados mostram que o inchamento do hidrogel passou a ser dominado pelo seu carácter aniónico, conferido pela presença de AA na sua estrutura (comparar composição de HG1 e HG2). Nas Figuras 35, 36 e 37 mostra-se que os hidrogéis HG5, HG6 e HG7 podem também ser usados como materiais estimuláveis pela temperatura. Note-se que as diferenças entre esses três materiais residem na utilização de diferentes tipos de *crosslinkers* (bi, tri e tetra-funcionais), que alteram a densidade de reticulação das redes e portanto o seu processo de inchamento. As Figuras 38 a 40 mostram que os hidrogéis HG9 (catiónico), HG12 (aniónico) e HG13 (anfotérico), redes de polímero iónicas baseadas em DMAEMA, AA e DMAEMA/MAA (respetivamente) não são estimuláveis por alteração da temperatura. Na Figura 41 mostra-se que o hidrogel HG14 (NIPA/RAFT) apresenta uma razoável sensibilidade à variação da temperatura mas as gamas de razões de inchamento alcançáveis são muito inferiores aos materiais equivalentes sintetizados por FRP (ex. HG1). Estas propriedades resultam da diminuição do tamanho médio das cadeias que é inerente à polimerização RAFT e consequente alteração da capacidade de inchamento. Estes resultados mostram a importância do processo de síntese dos materiais no seu desempenho final.



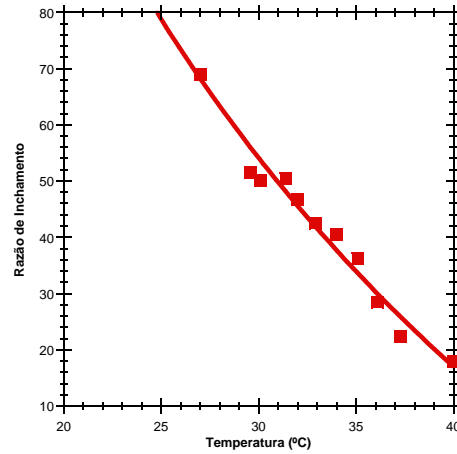
**Figura 33:** Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG1 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.



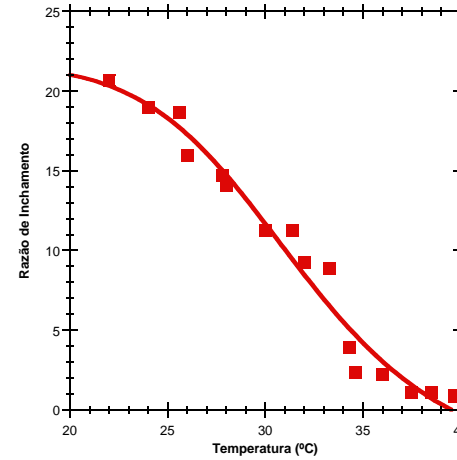
**Figura 34:** Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG2 (P(NIPA/AA)) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma baixa sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura. O inchamento do hidrogel é dominado pelo seu caráter aniônico, conferido pela presença de AA na sua estrutura.



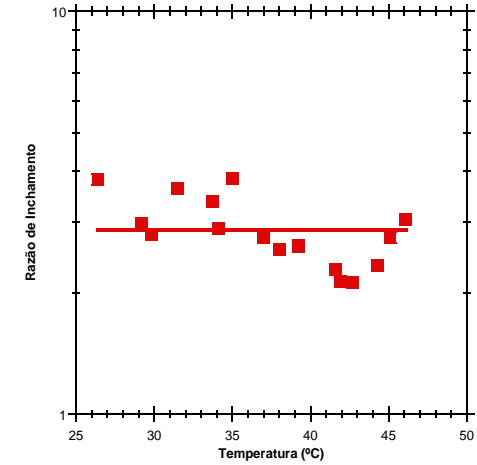
**Figura 35:** Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG5 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.



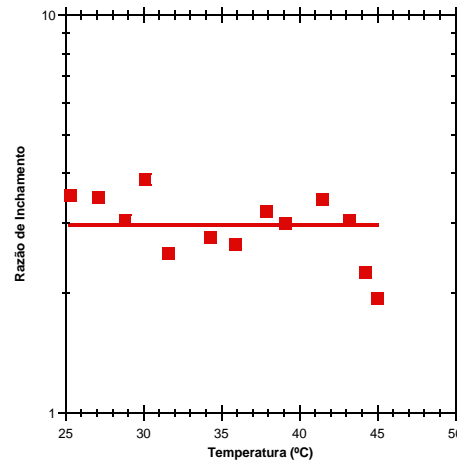
**Figura 36:** Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG6 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.



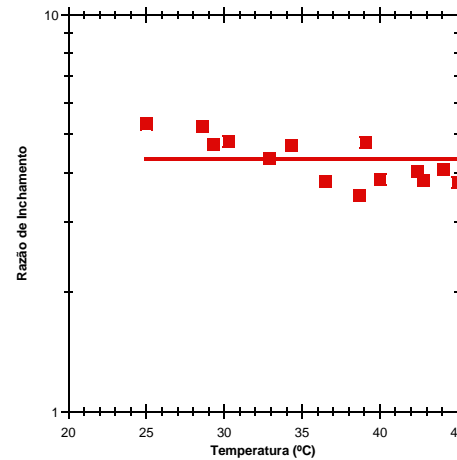
**Figura 37:** Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG7 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.



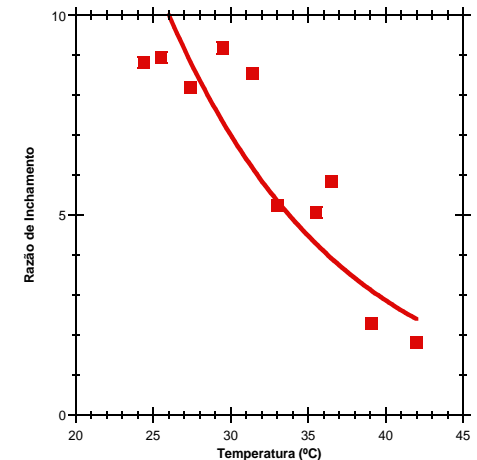
**Figura 38:** Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG9 (PDMAEMA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma muito reduzida sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.



**Figura 39:** Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG12 (PAA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma muito reduzida sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.



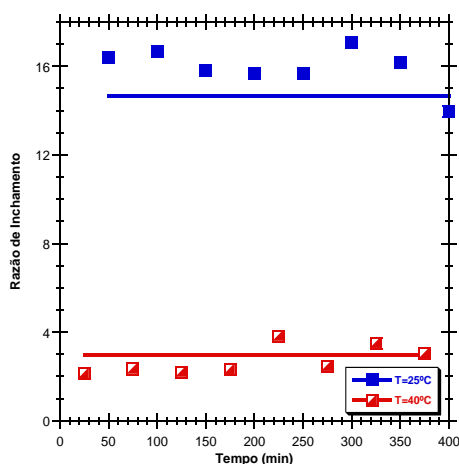
**Figura 40:** Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma muito reduzida sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.



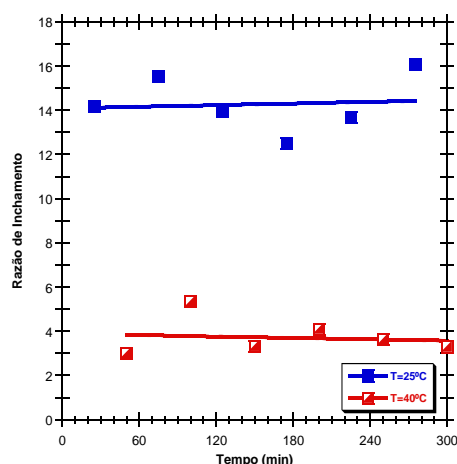
**Figura 41:** Sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação da temperatura: razão de inchamento de equilíbrio do hidrogel HG14 (PNIPA) observada a diferentes valores de temperatura. Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel à variação da temperatura.

### 4.3.2. Sensibilidade Dinâmica dos Hidrogéis à Variação da Temperatura

As Figuras 42 e 43 mostram a sensibilidade dinâmica dos hidrogéis HG1 e HG7 (ambos baseados em NIPA mas sintetizados com diferentes quantidades de MBAm), determinada em dois valores diferentes de temperatura. Salienta-se a rápida dinâmica de inchamento dos hidrogéis (em cerca de 10 min é atingido o estado de equilíbrio) e também a efetiva sensibilidade à temperatura (valores muito mais baixos de SR a 40 °C comparativamente com 25 °C). Note-se também a gama mais baixa de valores de SR observados com HG7 em resultado da maior quantidade de *crosslinker* (MBAm) usada e da conseqüente densificação da rede de polímero com concomitante diminuição da capacidade de inchamento.



**Figura 42:** Variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG1 (PNIPA) observada a dois valores diferentes de temperatura ( $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Os resultados experimentais mostram uma rápida dinâmica de inchamento e uma elevada sensibilidade do hidrogel à temperatura.

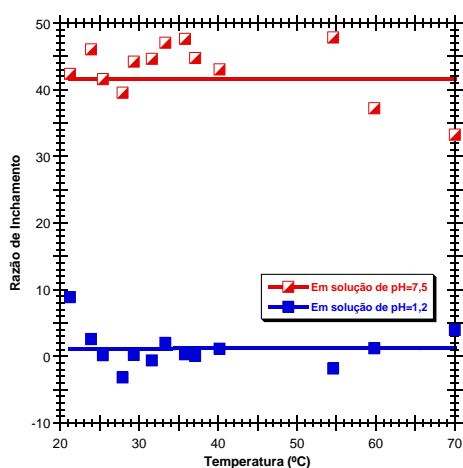


**Figura 43:** Variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG7 (PNIPA) observada a dois valores diferentes de temperatura ( $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Os resultados experimentais mostram uma rápida dinâmica de inchamento e uma elevada sensibilidade do hidrogel à temperatura.

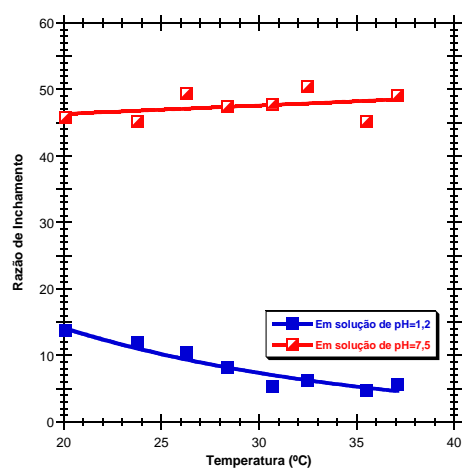
### 4.3.3. Sensibilidade de Equilíbrio dos Hidrogéis à Variação Simultânea do pH e da Temperatura

Nas Figuras 44 e 45 são apresentadas, para os hidrogéis HG2 (PNIPA/PAA) e HG3 (PNIPA/PMAA), as medições de equilíbrio relativas à variação da razão de inchamento com a temperatura, considerando também dois valores de pH diferentes ( $\text{pH}=1,2$  e

pH=7,5). Note-se que apesar desses hidrogéis incluírem NIPA, estes resultados mostram uma muito maior sensibilidade dos materiais ao pH comparativamente à temperatura. O efeito dos monómeros aniónicos (AA ou MAA) tem um efeito dominante sobre o inchamento do hidrogel. Estas observações demonstram o efeito da composição inicial da mistura reacional (ex. proporção entre os diferentes tipos de monómeros) nas propriedades dos produtos sintetizados. A variação da composição inicial pode assim ser usada para tentar projetar condições de operação que permitam obter materiais com propriedades por medida.



**Figura 44:** Variação com a temperatura da razão de inchamento do hidrogel HG2 (PNIPA/PAA) observada a dois valores diferentes de soluções de pH (pH=1,2 e pH=7,5). Apesar do hidrogel incluir NIPA, estes resultados mostram uma muito maior sensibilidade do material ao pH comparativamente à temperatura. O efeito do monómero aniónico (AA) tem um carácter dominante sobre o inchamento do hidrogel.



**Figura 45:** Variação com a temperatura da razão de inchamento do hidrogel HG3 (PNIPA/PMAA) observada a dois valores diferentes de soluções de pH (pH=1,2 e pH=7,5). Apesar do hidrogel incluir NIPA, estes resultados mostram uma muito maior sensibilidade do material ao pH comparativamente à temperatura. O efeito do monómero (MAA) tem um carácter dominante sobre o inchamento do hidrogel.

#### 4.3.4. Sensibilidade de Equilíbrio dos Hidrogéis à Variação do pH a Temperatura Constante (T=25 °C)

Na Figura 46 apresentam-se os valores observados para a razão de inchamento (SR) de um hidrogel baseado em MAA (ver Tabela 2) quando colocado em soluções aquosas com diferentes valores de pH. Estas medições foram realizadas mergulhando uma quantidade conhecida de hidrogel seco (ex. cerca de 0,2 g) num grande excesso de solução aquosa com um valor de pH previamente fixado (foram preparadas diferentes soluções de modo a abranger a gama de pH=1 até 14). Após um período de tempo

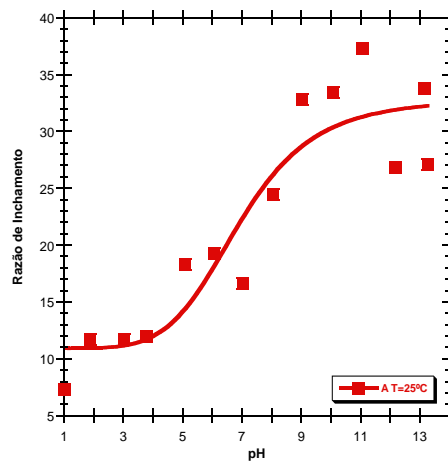
suficientemente longo (pelo menos 20 min), realizou-se a pesagem do hidrogel inchado, estimando-se desta forma a razão de inchamento de equilíbrio do material. Os resultados apresentados na Figura 46 mostram a sensibilidade do hidrogel à variação do pH da solução envolvente. Este material encontra-se contraído quando colocado em soluções ácidas (ex. SR~8 para pH~1) e aumenta significativamente a sua razão de inchamento com o pH, tendo sido observadas razões de inchamento próximas de 34 para pH=10. A sensibilidade deste material à variação do pH pode ser explorada em aplicações biomédicas, nomeadamente no controlo de libertação de fármacos com estímulo pelo pH (como adiante descrito neste trabalho). Note-se, por exemplo, que no trato gastrointestinal o estômago apresenta um pH próximo de 1 (meio ácido) enquanto no intestino se observam valores de pH próximos de 8 (meio ligeiramente alcalino). Conforme se pode observar na Figura 46, o hidrogel aqui descrito apresenta razões de inchamento muito diferentes nesses meios (cerca de 8 a pH=1 e aproximadamente 25 a pH=8). Note-se que o comportamento apresentado na Figura 46 é típico de um hidrogel aniónico (como é o caso dos hidrogéis baseados em AA), dado que os grupos funcionais presentes nas cadeias de polímero (ex. grupos ácido) sofrem diferentes graus de ionização em função do pH do meio envolvente com reflexo no estado macroscópico da rede de polímero (colapsado a meio ácido e inchado em meio alcalino). Deve notar-se que a dispersão (e alguma falta de reprodutibilidade) observada nas medições da razão de inchamento (neste e em outros sistemas apresentados neste trabalho) é em parte explicada por alguma variação na massa de hidrogel entre medições (partículas pequenas que passam através do filtro) e na dificuldade em remover exatamente o mesmo excesso de água presente no filtro em todos os momentos de medição.

Os resultados apresentados na Figura 47 mostram a sensibilidade do hidrogel HG9 (hidrogel catiónico) à variação do pH da solução envolvente. Ao contrário do que acontece com o hidrogel baseado em AA (aniónico), este material quando colocado em soluções ácidas encontra-se inchado (ex. SR~21 para pH~1) e diminui claramente a sua razão de inchamento com o aumento do pH, estabilizando num valor final próximo de 10 em meio fortemente alcalino.

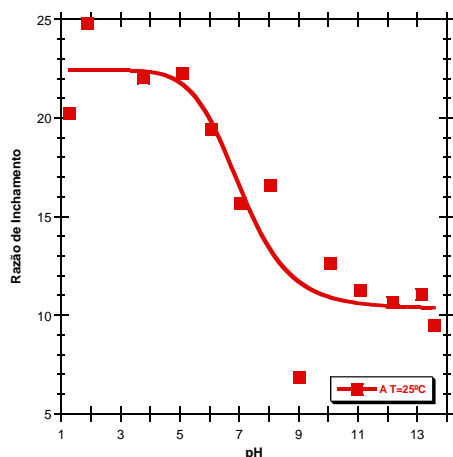
Na Figura 48 são apresentados os valores observados para a razão de inchamento de HG10 (PAA/RAFT) observada à temperatura constante de  $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel (aniónico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais

obtidos, nomeadamente a comparação de produtos FRP/RAFT ou mesmo o uso de diferentes condições RAFT, como se pode concluir da comparação deste hidrogel com HG12 (ver Figura 49) que é também um material PAA/RAFT sintetizado com outro agente RAFT (CPA, como detalhado na Tabela 2).

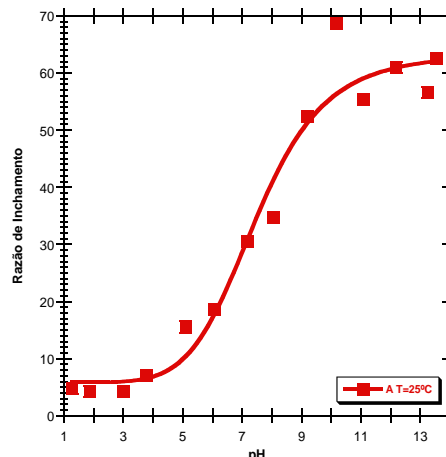
Na Figura 50 apresentam-se medições semelhantes para o hidrogel anfotérico HG13 (PDMAEMA/MAA). Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi também obtido através de síntese RAFT e estes resultados reforçam o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a baixa gama de razão de inchamento que é em geral observada para produtos RAFT em comparação com FRP).



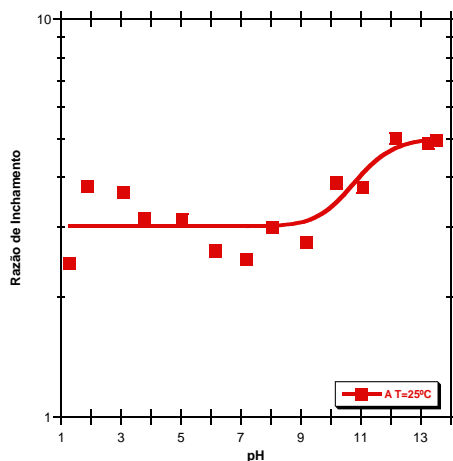
**Figura 46:** Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG4 (P (NIPA/MAA)) observada à temperatura constante de T=25 °C. Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel (parcialmente aniónico) à variação do pH.



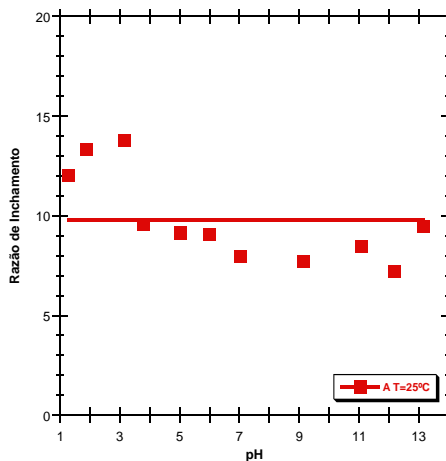
**Figura 47:** Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG9 (PDMAEMA) observada à temperatura constante de  $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel (catiônico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese FRP e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos FRP/RAFT).



**Figura 48:** Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG10 (PAA) observada à temperatura constante de  $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel (aniônico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos, nomeadamente a comparação de produtos FRP/RAFT ou mesmo o uso de diferentes condições RAFT (comparar com HG12 na Figura 49).



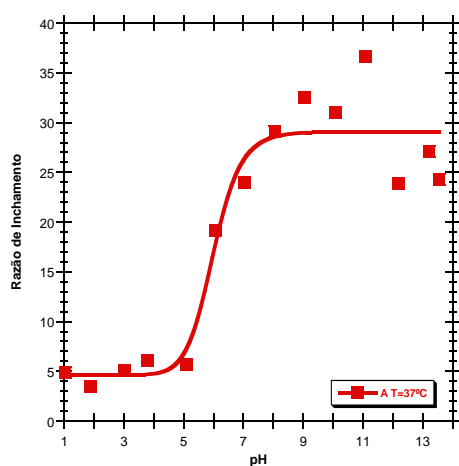
**Figura 49:** Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG12 (PAA) observada à temperatura constante de  $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel (aniônico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos FRP/RAFT).



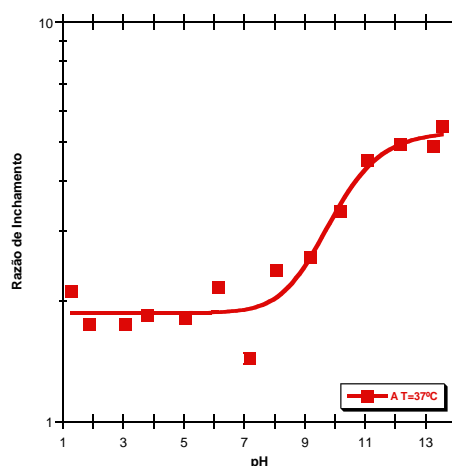
**Figura 50:** Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) observada à temperatura constante de  $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel (anfotérico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos FRP/RAFT).

### 4.3.5. Sensibilidade de Equilíbrio dos Hidrogéis à Variação do pH a Temperatura Constante ( $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

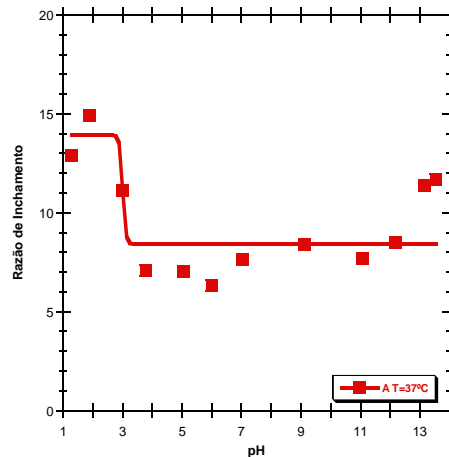
Nas Figuras 51 a 53 são apresentados resultados análogos aos da secção anterior mas considerando o inchamento de equilíbrio de hidrogéis a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Assinala-se a efetiva sensibilidade dos hidrogéis aniónicos e catiónicos à variação do pH também à temperatura de  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . No caso do hidrogel HG4, é observada a esta temperatura uma gama de valores de SR inferior ao medido a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  (ver Figura 46) o que se explica pela presença de NIPA na estrutura do material. Os resultados apresentados nas Figuras 52 e 53 reconfirmam o forte impacto da síntese RAFT nas propriedades dos materiais obtidos (em geral é observada uma baixa gama de razão de inchamento), nomeadamente em comparação com FRP.



**Figura 51:** Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG4 (P (NIPA/MAA)) observada à temperatura constante de  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma elevada sensibilidade deste hidrogel (parcialmente aniónico) à variação do pH.



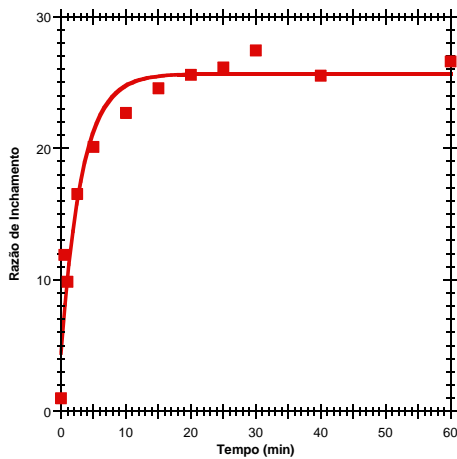
**Figura 52:** Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG12 (PAA) observada à temperatura constante de  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel (aniónico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos (FRP/RAFT)).



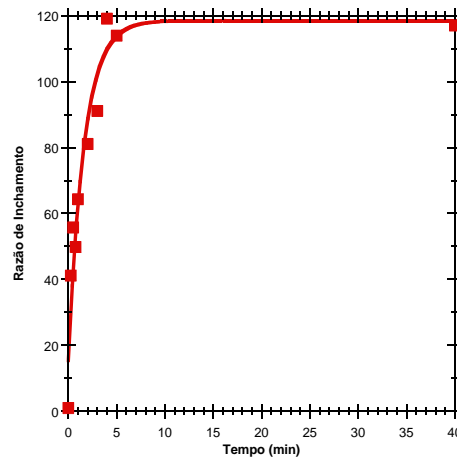
**Figura 53:** Razão de inchamento de equilíbrio de hidrogéis a diferentes valores de pH: variação com o pH da razão de equilíbrio do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) observada à temperatura constante de  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados experimentais mostram uma moderada sensibilidade deste hidrogel (anfotérico) à variação do pH. Note-se que este hidrogel foi obtido através de síntese RAFT e estes resultados mostram o forte impacto das condições de síntese nas propriedades dos materiais obtidos (nomeadamente a comparação de produtos (FRP/RAFT)).

#### 4.3.6. Dinâmica de Inchamento dos Hidrogéis em Água Desionizada

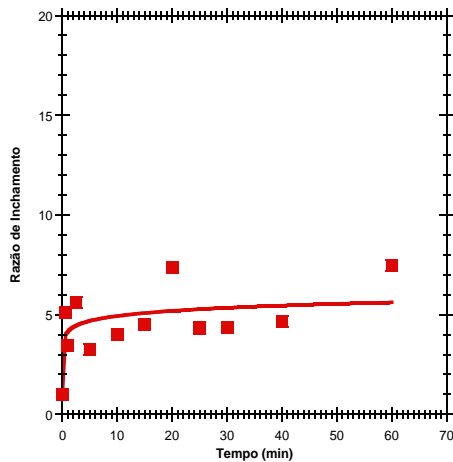
Nas Figuras 54 a 57 é ilustrada com alguns exemplos a dinâmica de inchamento de hidrogéis em água desionizada. Em todos os casos foi observada uma variação rápida da razão de inchamento com o tempo e ao fim de cerca de 10 min os materiais estão já próximos do estado de equilíbrio. De salientar novamente os valores elevados das razões de inchamento observadas com hidrogéis FRP (HG1-NIPA e HG2-NIPA/AA), em particular quando está envolvido AA (Figura 55) (usado na produção de materiais superabsorventes). A dinâmica de inchamento de hidrogéis RAFT (HG12 e HG13) é também bastante rápida mas a gama de razões de inchamento é geral nestes casos muito mais baixa (Figuras 56 e 57).



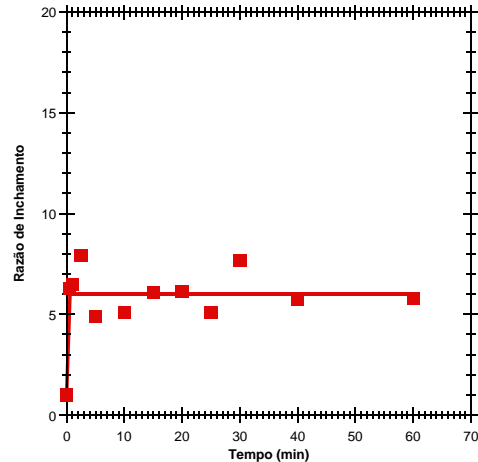
**Figura 54:** Dinâmica de inchamento de hidrogéis por efeito da água: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG1 (PNIPA) à temperatura de 20 °C. Os resultados experimentais mostram a rápida dinâmica de inchamento do hidrogel que ao fim de cerca de 10 min atinge o estado de equilíbrio.



**Figura 55:** Dinâmica de inchamento de hidrogéis por efeito da água: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG2 (P(NIPA/AA)) à temperatura de 20 °C. Os resultados experimentais mostram a rápida dinâmica de inchamento do hidrogel que ao fim de cerca de 10 min atinge o estado de equilíbrio.



**Figura 56:** Dinâmica de inchamento de hidrogéis por efeito da água: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG12 (PAA) à temperatura de 20 °C. Os resultados experimentais mostram também o rápido inchamento do hidrogel mas uma razão de inchamento de equilíbrio relativamente baixa. Note-se que este hidrogel de PAA foi obtido por polimerização RAFT, o que demonstra o efeito das condições de síntese nas propriedades dos materiais, nomeadamente quando se comparam as técnicas FRP/RAFT.



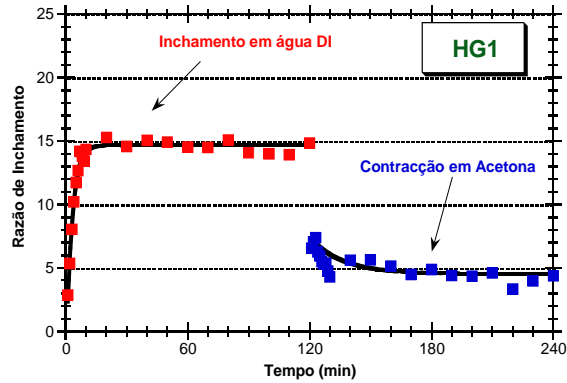
**Figura 57:** Dinâmica de inchamento de hidrogéis por efeito da água: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG13 (P(DMAEMA/MAA)) à temperatura de 20 °C. Os resultados experimentais mostram também o rápido inchamento do hidrogel mas uma razão de inchamento de equilíbrio relativamente baixa. Note-se que este hidrogel de P(DMAEMA/MAA) foi obtido por polimerização RAFT, o que demonstra o efeito das condições de síntese nas propriedades dos materiais, nomeadamente quando se comparam as técnicas FRP/RAFT.

### 4.3.7. Dinâmica de Inchamento em Água Desionizada e Colapso em Acetona

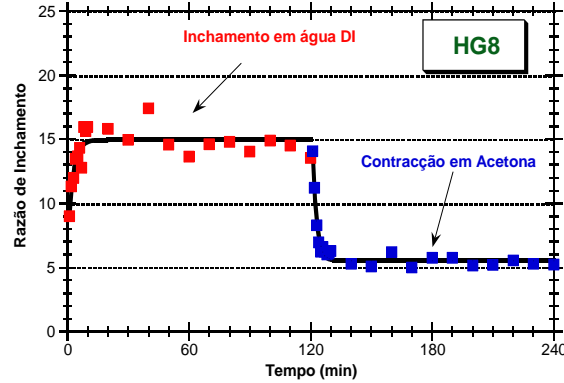
Nesta secção são apresentados resultados experimentais relativos à dinâmica de inchamento de hidrogéis em água desionizada e posterior contração em solvente desidratante (no caso acetona). As medições da razão de inchamento foram realizadas através de uma metodologia semelhante aquela anteriormente detalhada, com a diferença que num instante de tempo especificado o hidrogel que estava colocado em água desionizada passou a ser colocado em acetona. Um caso típico é apresentado na Figura 58 onde se pode observar a dinâmica de inchamento em água desionizada de HG1 até  $t=120$  min (SR de equilíbrio  $\sim 15$ ), seguida da sua rápida contração em acetona (SR de equilíbrio  $\sim 5$ ). O processo de contração explica-se, de uma forma simples, com base na difusão da água do interior do hidrogel para a acetona circundante. Um resultado semelhante é mostrado na Figura 59 para HG8.

Nas Figuras 60 e 61 são apresentadas as medições similares correspondentes aos hidrogéis HG9 e HG10 onde é observável a existência de um *overshoot* na razão de inchamento dos hidrogéis quando se faz a transição de água para acetona. Este efeito deverá estar relacionado com migração água/acetona nos instantes próximos da transição e parece ser influenciado pelas condições de síntese dos materiais (EGDMA usado como *crosslinker* numa rede de DMAEMA para HG9 e processo RAFT de AA em HG10). Note-se que, em equilíbrio, o inchamento de HG9 é aproximadamente o mesmo em água/acetona enquanto para HG10 foi observado uma contração efetiva em acetona. Estes dados indicam que o efeito de desidratação/inchamento em solventes orgânicos é dependente da afinidade química entre a rede de polímero e o solvente orgânico considerado.

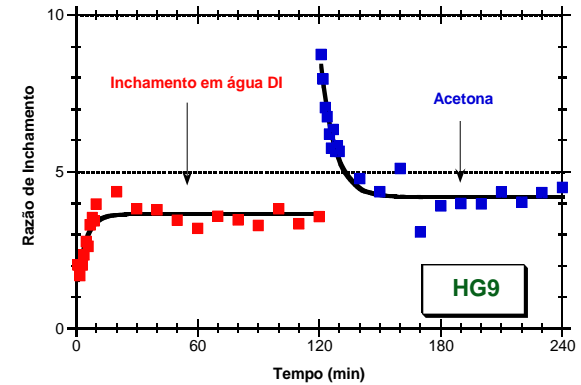
Outros exemplos, mostrando uma contração em acetona dependente das condições de síntese/estrutura das redes, encontram-se apresentados nas Figuras 62 a 66 para os hidrogéis HG12 (RAFT/AA), HG13 (RAFT/DMAEMA/MAA), HG17 (FRP/NVP), HG19 (FRP/DMA) e HG20 (FRP/AAm).



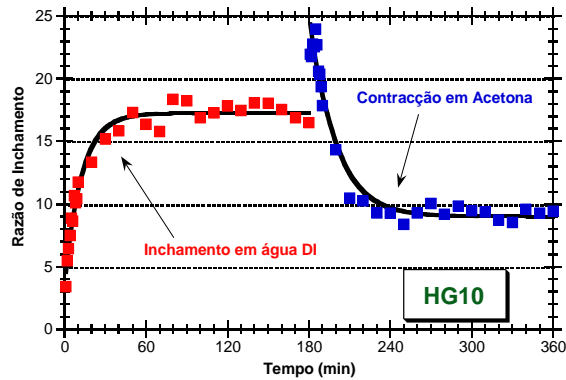
**Figura 58:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG1 (PNIPA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.



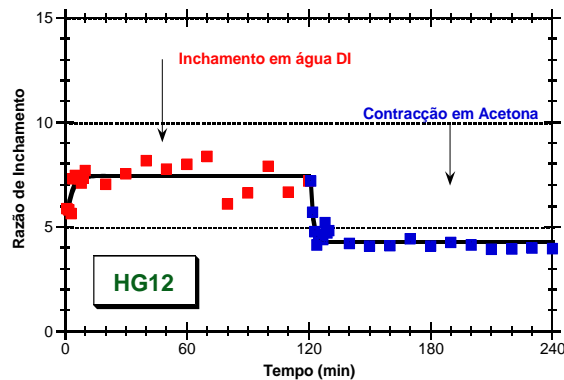
**Figura 59:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG8 (PDMAEMA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.



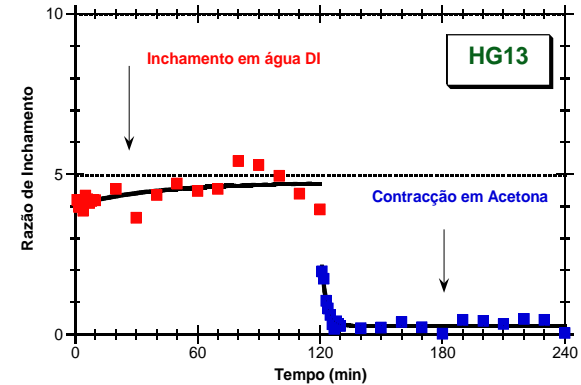
**Figura 60:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG9 (PDMAEMA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.



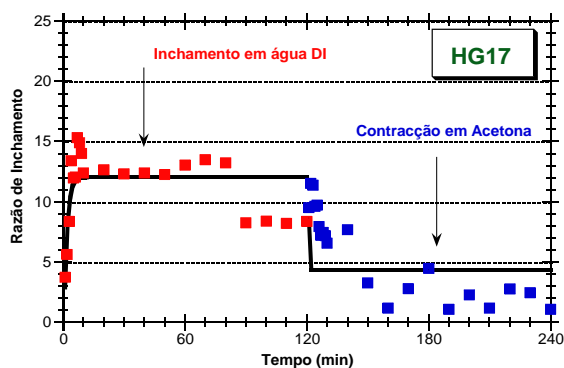
**Figura 61:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG10 (PAA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.



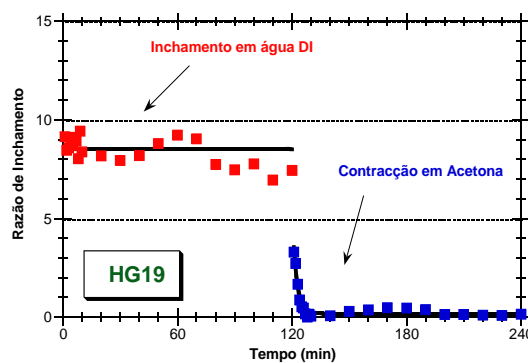
**Figura 62:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG12 (PAA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.



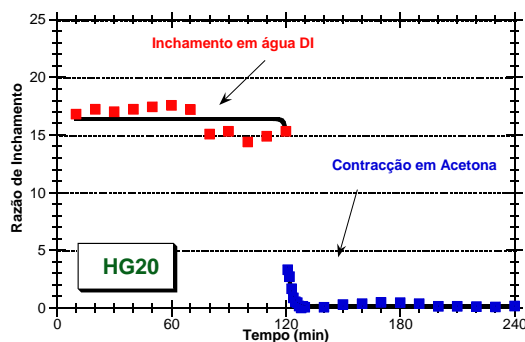
**Figura 63:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.



**Figura 64:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG17 (PNVP) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.



**Figura 65:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG19 (PDMA) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.



**Figura 66:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da desidratação: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG20 (PAAm) em água desionizada e em acetona mostrando o efeito da desidratação na contração do hidrogel.

### 4.3.8. Efeito da Força Iônica Sobre a Dinâmica de Inchamento/Contração de Hidrogéis

Muitos hidrogéis, em particular os hidrogéis iônicos, são sensíveis à variação da força iônica (concentração de sais) das soluções aquosas onde se encontram colocados. A variação da razão de inchamento que é observada nestes casos deve-se à migração de espécies iônicas para o interior/exterior da rede com concomitante alteração do seu estado macroscópico. Nas Figuras 67 a 76 são ilustrados alguns testes realizados neste âmbito, nomeadamente a dinâmica de inchamento dos materiais em água desionizada seguida da sua contração numa solução contendo um sal (no caso NaCl). O procedimento experimental usado é em tudo análogo ao dos casos anteriores, sendo que,

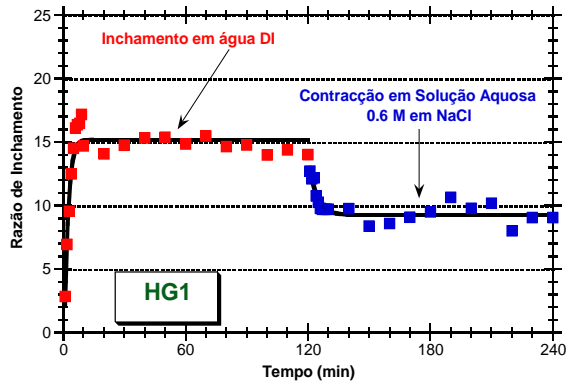
num tempo especificado, o hidrogel foi passado de uma solução de água desionizada para uma solução salina.

A dinâmica de contração de um hidrogel NIPA (no caso HG1) quando transita de água desionizada para uma solução aquosa de NaCl 0.6 M é apresentada na Figura 67. Verifica-se a diminuição de SR de equilíbrio de ~15 para ~9 em resultado desta transição. Nas Figuras 68 e 69 pode observar-se que os hidrogéis HG8 e HG9 são pouco sensíveis a este tipo de estímulos. Este facto pode em parte ser explicado devido à maior quantidade de *crosslinker* que foi usada na síntese destes materiais (5% EGDMA) o que aumenta a rigidez da rede e diminui a sua capacidade para sofrer processos de inchamento/contração.

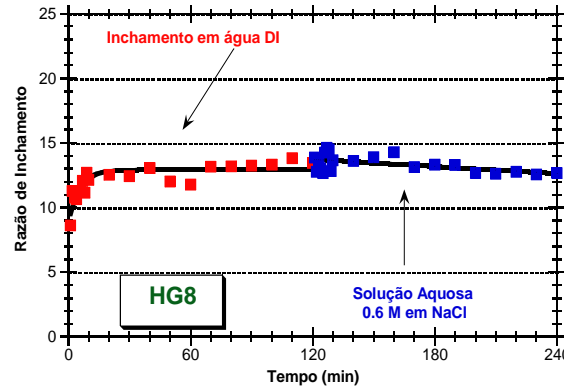
Nas Figuras 70 a 72 pode observar-se a elevada sensibilidade do hidrogel HG10 (hidrogel de AA - fortemente aniónico) à variação da força iónica. Foram consideradas três soluções com diferentes concentrações de NaCl (0,15; 0,3 e 0,6 M) sendo de assinalar uma diferença já muito ténue no SR de equilíbrio quando se comparam os meios com 0,3 e 0,6 M de NaCl. A razão de inchamento de equilíbrio deste hidrogel é cerca de 4 vezes maior (16/4) quando se compara o seu comportamento em água desionizada/solução salina de NaCl.

Nas Figuras 73 e 74 é também evidenciado o efeito do uso da síntese RAFT nas propriedades deste tipo de materiais, nomeadamente para os hidrogéis HG12 e HG13 (síntese RAFT com CPA). Assinala-se a baixa capacidade destas redes para sofrer processos de inchamento contração e a conseqüente impossibilidade de serem estimuladas por alterações das condições envolventes. Estes resultados reforçam as diferenças com redes FRP (em geral maiores comprimentos de cadeia) mas também a importância de usar síntese RAFT com condições criteriosamente projetadas. De facto, usando HG10 como exemplo, foi possível obter um hidrogel RAFT (DDMAT/solvente orgânico) com uma razoável capacidade de sofrer estimulação.

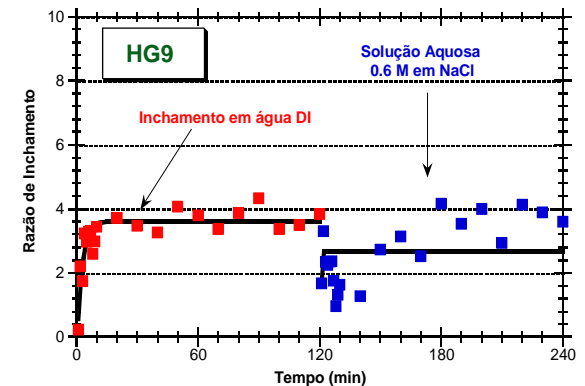
Nas Figuras 75 e 76 mostram-se medições equivalentes com os hidrogéis HG17 e HG19 evidenciando também a baixa sensibilidade de hidrogéis de NVP (neste caso com observação de um *overshoot*) e de DMA à variação da força iónica.



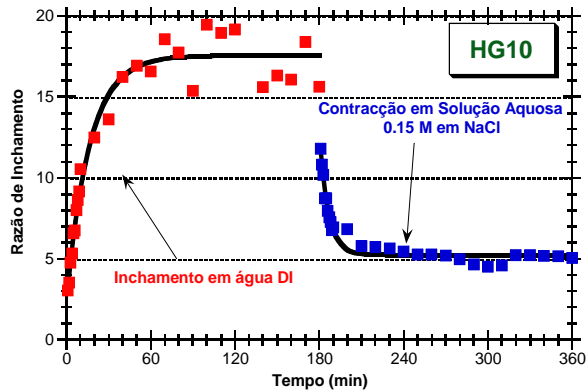
**Figura 67:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG1 (PNIPA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.



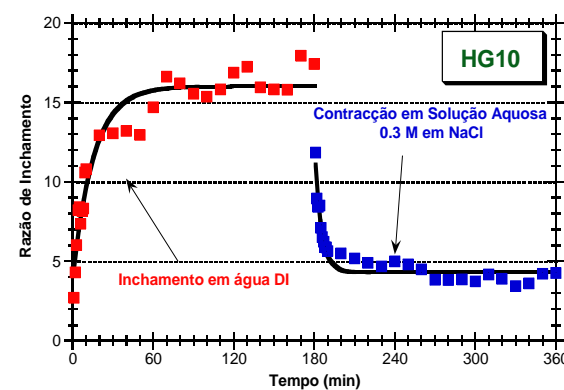
**Figura 68:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG8 (PDMAEMA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.



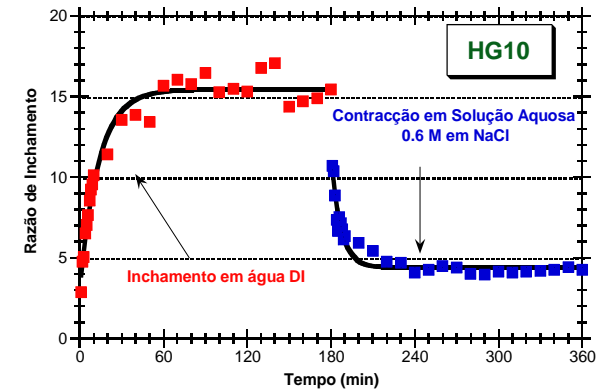
**Figura 69:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG9 (PDMAEMA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.



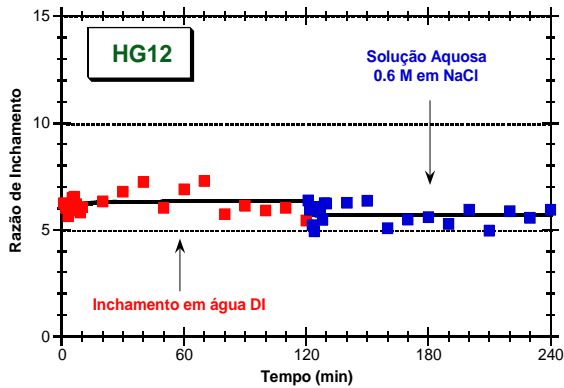
**Figura 70:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG10 (PAA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,15 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.



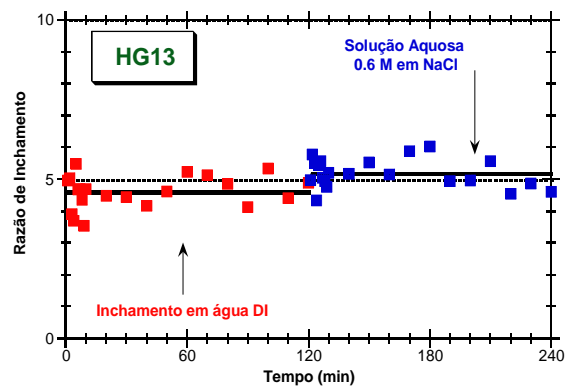
**Figura 71:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG10 (PAA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,3 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.



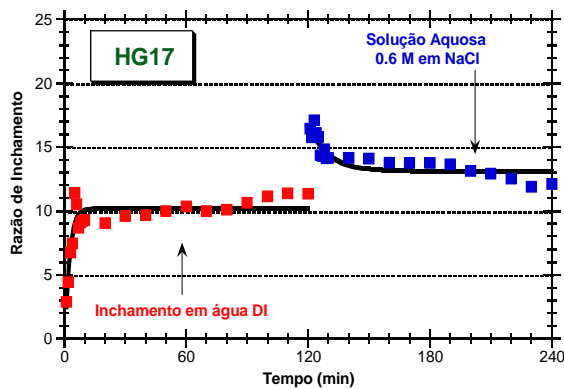
**Figura 72:** Dinâmica de inchamento/contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG10 (PAA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.



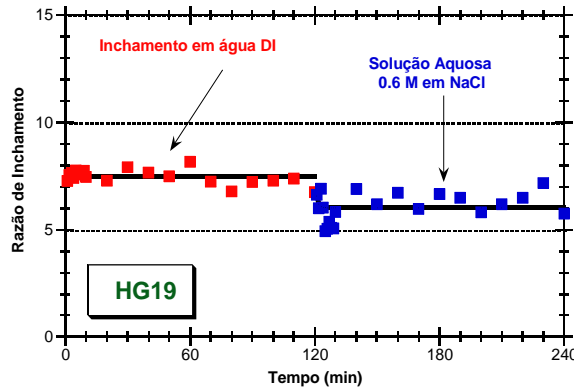
**Figura 73:** Dinâmica de inchamento/ contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG12 (PAA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.



**Figura 74:** Dinâmica de inchamento/ contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG13 (P (DMAEMA/MAA)) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.



**Figura 75:** Dinâmica de inchamento/ contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG17 (PNVP) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.



**Figura 76:** Dinâmica de inchamento/ contração de hidrogéis por efeito da força iónica: variação com o tempo da razão de inchamento do hidrogel HG19 (PDMA) em água desionizada e numa solução aquosa 0,6 M em NaCl. Com este teste pretendeu-se avaliar o efeito da força iónica na contração do hidrogel.

# Capítulo 5 – Testes de Liberação Controlada de Fármacos

## 5.1. Introdução

Nesta secção apresentam-se os resultados relativos à liberação controlada de fármacos a partir dos hidrogéis sintetizados como descrito no capítulo 3 (ver Tabelas 2 e 3) e caracterizados de acordo com os detalhes apresentados no capítulo 4. Os estudos de liberação foram realizados considerando quatro fármacos modelo usados na prática no tratamento de algumas doenças: 5-fluoruracilo (5FU – usado no tratamento do cancro), ibuprofeno (IBU – analgésico e anti-inflamatório), isoniazida (INH – usada no tratamento da tuberculose) e cafeína (CAF – estimulador do sistema nervoso central). Para a realização destes testes foram selecionados os hidrogéis que, de acordo com o estudo apresentado no capítulo 4, apresentam maior potencialidade para serem estimulados, ou seja, que apresentam uma elevada variação da razão de inchamento sob efeito da alteração das condições envolventes. Foram considerados como estímulos a variação da temperatura (numa gama próxima da fisiologia humana), a variação do pH (meio ácido/alcalino) ou a combinação simultânea da variação desses dois parâmetros. Estes testes tiveram como objetivo quantificar a dinâmica de liberação dos fármacos a partir dos materiais selecionados de modo a tentar encontrar linhas de ligação que potenciem combinações vantajosas entre fármaco/hidrogel/estímulo. Tentou-se também observar o efeito das condições de síntese dos materiais (variação da composição inicial, polimerização FRP/RAFT, polimerização em suspensão/solução) sobre o seu desempenho na liberação de fármacos.

Estes estudos foram realizados através da medição por espectroscopia de UV das quantidades de fármacos presentes, em diferentes instantes de tempo, nas soluções aquosas contendo os hidrogéis. Como será discutido neste capítulo, foram usados em alternativa dois sistemas diferentes de espectroscopia UV: o *modo aberto* baseado na medição dos picos de fármaco através de um sistema de GPC e o *modo fechado* onde se fez a comparação entre a absorção das amostras contendo fármaco e a água pura.

Nas Tabelas 4, 5 e 6 são apresentados os detalhes relativos aos testes de liberação de fármacos realizados bem como as medições efetuadas com o objetivo de estimar as

quantidades de fármacos carregadas (incubadas) nos hidrogéis tendo em vista a sua posterior libertação. Em concreto, com os hidrogéis sintetizados em suspensão inversa, foram testados dois métodos de carregamento (A - secagem direta da mistura fármaco/hidrogel/água e B - secagem após filtração da mistura fármaco/hidrogel/água) enquanto que com os hidrogéis sintetizados em solução apenas foi considerado um método de incubação B.

Nestes estudos foi observada uma elevada dispersão (e alguma falta de reprodutividade) nas medições relativas à libertação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. Este facto poderá estar relacionado com dificuldades experimentais associadas com o pequeno tamanho destas partículas de hidrogel originado eventuais perdas de massa ao longo das etapas de medição. De facto, este problema foi ultrapassado com os hidrogéis sintetizados em solução que são materiais sob a forma de massa contínua mesmo após trituração.

Foi também feito o ajuste dos dados experimentais de libertação de fármacos usando dois modelos alternativos para os sistemas de suspensão inversa: um modelo exponencial e um modelo de potência. O modelo de potência foi nestes casos considerado na tentativa de melhorar os resultados obtidos com o modelo exponencial. Para os hidrogéis sintetizados em solução, verificou-se que o modelo exponencial permite obter uma boa descrição teórica do processo de libertação dos fármacos.

Os estudos de libertação de fármacos realizados compararam também hidrogéis da mesma família sintetizados por FRP e por RAFT. Não foi possível obter conclusões assertivas sobre a melhoria do desempenho dos materiais em resultado do uso de RAFT. De qualquer forma, os resultados mostram que esta técnica pode ser usada no projeto de condições de síntese que modifiquem as propriedades das redes de polímero. Esta ferramenta pode ser explorada em trabalhos futuros que visem a obtenção de materiais com propriedades por medida.

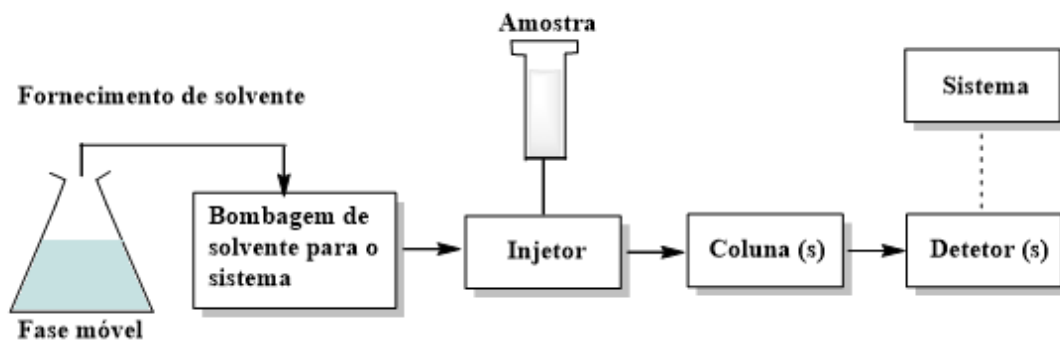
## 5.2. Materiais

Os fármacos usados nos testes de libertação controlada (cafeína, ibuprofeno, isoniazida e 5-fluoruracilo) foram adquiridos à empresa *Sigma Aldrich* (ver Tabela 10 e Figura 143 nos Anexos deste trabalho). Outros materiais de uso geral necessários à realização destes estudos encontram-se também descritos nos Anexos deste trabalho. Para injeção

no sistema de GPC de amostras das soluções aquosas analisadas foram usados filtros de membrana de celulose com porosidade de 0,45 micron (filtros da marca *Whatman*), especialmente apropriados para sistemas aquosos (ver Figura 149 dos Anexos).

### 5.3. Cromatografia de Exclusão de Tamanhos

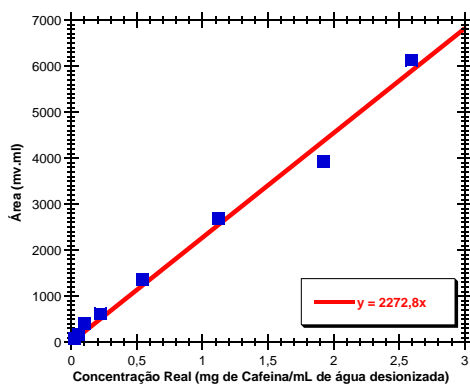
Neste trabalho foi usado um instrumento *Viscotec GPCmax* com detecção simultânea de quatro sinais (índice de refração, dispersão da luz, viscosidade intrínseca e UV) para realizar análises por cromatografia de exclusão de tamanhos (SEC). Nas Figuras 87 e 151 (Anexos) podem ser encontradas ilustrações fotográficas do equipamento usado. Esta técnica (também usualmente designada por cromatografia de permeação em gel – GPC) é especialmente útil na caracterização da arquitetura molecular de polímeros. No contexto dos testes aqui apresentados, este instrumento foi usado para medições das quantidades de fármacos libertadas, considerando para isso o seu pico específico nos cromatogramas com detecção UV. Exemplos de cromatogramas tipicamente observados são apresentados nos anexos CC e DD deste documento. Na Figura 77 abaixo apresentada faz-se uma representação esquemática simplificada de um sistema de GPC que tem a vantagem de permitir separar diferentes espécies químicas (ex. fármacos) caso seja necessário (conforme à frente discutido neste trabalho). Como alternativa ao *modo aberto* (uso de GPC), a quantificação de fármacos foi realizada (com economia de recursos) através do *modo fechado* em que a absorção UV das soluções contendo fármacos é comparada com a da água pura. Para esse efeito foi usado um espectrofotómetro UV-VIS da marca *JASCO*, modelo V-530.



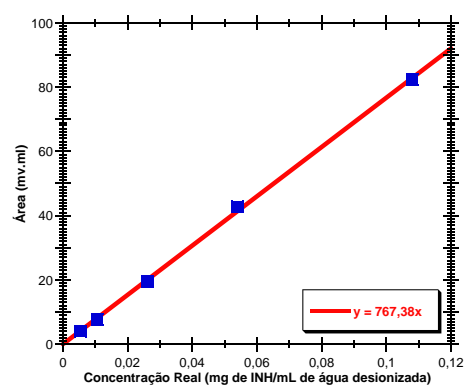
**Figura 77:** Esquema simplificado representando um sistema típico de GPC [adaptado de 70].

## 5.4. Curvas de Calibração dos Fármacos

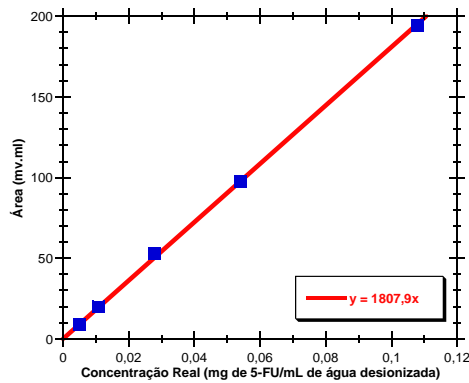
A medição das quantidades de fármacos presentes nas amostras das soluções aquosas analisadas é feita usando uma curva de calibração específica para cada caso. Essas calibrações são construídas com base na preparação de um conjunto de soluções com concentrações conhecidas e medição das respectivas absorções no UV, escolhendo para isso um comprimento de onda que esteja próximo da maximização da resposta do fármaco considerado. Nas Figuras 78, 79 e 80 são apresentadas as curvas de calibração de três dos fármacos usados neste trabalho (CAF, INH e 5-FU), obtidas por espectroscopia UV integrada num sistema de GPC a operar em contínuo (*modo aberto*) (Anexo CC). Estas calibrações foram usadas para quantificar os testes de liberação de fármacos analisados também através de GPC. Não foi construída curva de calibração de IBU puro devido à muito baixa solubilidade deste fármaco em água desionizada pura ou no eluente usado no GPC (solução aquosa de  $\text{NaN}_3$ ). A solubilidade de IBU em soluções aquosas aumenta significativamente em meio alcalino ou gerando um sal de IBU (por exemplo através da sua reação com  $\text{NaOH}$ ). Nos Anexos Y, Z, AA e BB apresentam-se as curvas de calibração dos quatro fármacos (5-FU, IBU, INH e CAF), obtidas também por espectroscopia UV mas em *modo fechado*. Estas calibrações foram usadas na quantificação dos testes de liberação analisadas por UV também em *modo fechado* (testes descritos na Tabela 6). Nestes casos, foi usado o sal de sódio de IBU (em vez de IBU puro) que apresenta uma elevada solubilidade em água.



**Figura 78:** Curva de Calibração da Cafeína obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) usando comprimento de onda  $\lambda=265$  nm. A calibração aqui apresentada refere-se à análise dos fármacos por GPC (*modo aberto*). Nos anexos Y, Z, AA e BB apresentam-se as calibrações correspondentes à espectroscopia UV dos fármacos em modo *fechado* (comparação da amostra com  $W_{DI}$ ).



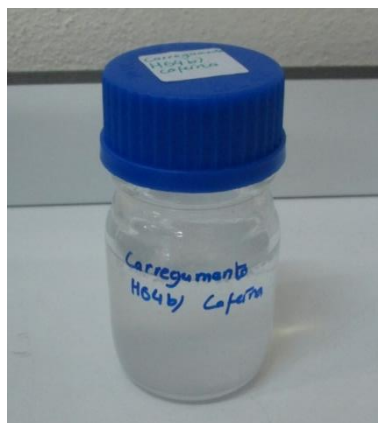
**Figura 79:** Curva de Calibração da Isoniazida obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) usando comprimento de onda  $\lambda=265$  nm. A calibração aqui apresentada refere-se à análise dos fármacos por GPC (*modo aberto*). Nos anexos Y, Z, AA e BB apresentam-se as calibrações correspondentes à espectroscopia UV dos fármacos em modo *fechado* (comparação da amostra com  $W_{DI}$ ).



**Figura 80:** Curva de Calibração do 5-Fluoruracilo obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) usando comprimento de onda  $\lambda=265$  nm. A calibração aqui apresentada refere-se à análise dos fármacos por GPC (modo *aberto*). Nos anexos Y, Z, AA e BB apresentam-se as calibrações correspondentes à espectroscopia UV dos fármacos em modo *fechado* (comparação da amostra com  $W_{DI}$ ).

## 5.5. Processo de Incubação dos Fármacos

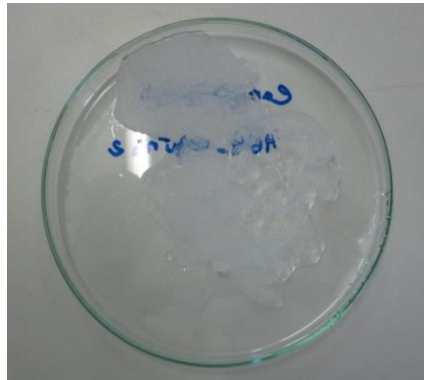
O processo de incubação (carregamento) tem como objetivo reter o fármaco na matriz do hidrogel. Para esse efeito, foram colocados num frasco *Schott* as quantidades pretendidas de fármaco diluído em água desionizada (Figura 141 dos Anexos) e hidrogel durante pelo menos 48 horas. Na Tabela 4 são apresentadas as quantidades utilizadas no processo de incubação dos hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. Na Tabela 5 é apresentada informação semelhante para os hidrogéis sintetizados em solução. Na Figura 81 apresenta-se uma ilustração fotográfica do processo de incubação de um hidrogel.



**Figura 81:** Ilustração do processo de incubação de um hidrogel com um fármaco. Neste caso específico usaram-se  $\sim 0,40$  g de HG4,  $\sim 185$  mg de cafeína em  $\sim 80$  mL de água desionizada no processo de incubação (ver Tabelas 4 e 5 para obter detalhes sobre este e outros processos de incubação). No processo de carregamento, os hidrogéis foram mantidos em solução de fármaco à temperatura ambiente durante pelo menos 48 horas.

### 5.5.1. Filtração e Secagem do Hidrogel Incubado

No processo de incubação é considerado um período de tempo relativamente longo (pelo menos 48 horas) de forma a promover a difusão de uma quantidade elevada de fármaco para o interior do hidrogel. Terminada essa etapa, é feita a secagem do hidrogel de modo a obter um material sólido contendo o fármaco. Neste trabalho usaram-se dois métodos diferentes de incubação de hidrogéis. No método A não se realizou o processo de filtração da água presente (secagem direta da solução). No método B foi primeiro feita a filtração do hidrogel e apenas depois a sua secagem (Figura 148 dos Anexos). Com o método B de carregamento de fármaco são incubadas quantidades mais baixas comparativamente ao método A. No entanto, considerando o caso A, uma parte substancial do fármaco poderá estar alojada na superfície do hidrogel, conduzindo à sua passagem rápida para a fase líquida aquando da colocação do hidrogel seco em solução. A Figura 82 ilustra o processo de filtração e secagem do hidrogel incubado.



**Figura 82:** Aspeto morfológico de um hidrogel (HG4 é aqui usado como exemplo) carregado com um fármaco (cafeína neste caso específico), depois da filtração e recolha do material inchado. Os hidrogéis incubados foram posteriormente sujeitos a secagem em estufa de vácuo. Neste trabalho usaram-se dois métodos diferentes de incubação de hidrogéis: método A em que não se realizou o processo de filtração da  $W_{DI}$  presente (secagem direta da solução) e método B com secagem após filtração (conforme atrás detalhado). Com o método de carregamento de fármaco B são incubadas quantidades mais baixas comparativamente ao método A. No entanto, no último caso, uma parte substancial do fármaco poderá estar alojada na superfície do hidrogel, conduzindo à sua passagem rápida para a fase líquida aquando da colocação do hidrogel em solução.

### 5.5.2. Estimativa da Quantidade de Fármaco Incubada

Nos estudos realizados é importante estimar as quantidades de fármacos incubadas nos hidrogéis de modo a ter uma referência para as concentrações máximas esperadas no

seu processo posterior de liberação. A obtenção das quantidades efetivamente incubadas pode ser uma tarefa complexa e está dependente do método experimental de incubação adotado. No presente trabalho foram consideradas diferentes abordagens conforme abaixo discutido.

Considerando o método de incubação A (secagem direta da solução contendo o hidrogel e o fármaco), a concentração de fármaco no hidrogel (expressa em mg de fármaco/g de hidrogel) é obtida diretamente de:

$$C_0 = \frac{m_3}{m_1} \quad (11)$$

Em que se consideram as seguintes definições (ver também Tabelas 4 e 5):

$m_1$  - A massa do hidrogel (g) usada no processo de incubação.

$m_3$  - A massa de fármaco (mg) usada no processo de incubação.

$C_0$  - A estimativa da concentração de fármaco no hidrogel (mg/g) usando o método de carregamento A.

Com o método carregamento B (secagem após filtração), a obtenção da estimativa para quantidade de fármaco incubada foi realizada de duas formas distintas (ver comparação nos Anexos V a X). Considerando a distribuição homogênea do fármaco entre as fases sólida e líquida e tendo em consideração o inchamento observado para o hidrogel, é obtida a seguinte relação (ver também a Tabela 5):

$$C_1 = \frac{(m_{SH} - m_1) \times \frac{m_3}{m_2}}{m_1} = \frac{m_3}{m_2} (SR - 1) \quad (12)$$

Sendo as novas variáveis definidas da seguinte forma:

$m_2$  - A massa de água usada no processo de incubação.

$m_{SH}$  - A massa de hidrogel inchado (g).

$C_1$  - A estimativa da concentração de fármaco no hidrogel (mg/g) usando o método de carregamento B e baseada no seu grau de inchamento.

Esta estimativa poderá apresentar desvios relativamente à quantidade de fármaco efetivamente incubada caso haja interações (preferenciais ou negativas) entre o fármaco e o hidrogel, por exemplo devido à atração ou repulsão de grupos iónicos.

Uma outra forma de obter a estimativa da quantidade de fármaco incubada baseia-se na análise UV do fármaco presente na fase líquida remanescente após o processo de incubação. Por diferença, é determinada a quantidade de fármaco carregada no hidrogel (ver também a Tabela 5):

$$C_2 = \frac{m_3 - m_{WAI} \times C_{UV}}{m_1} \quad (13)$$

Sendo as novas variáveis definidas da seguinte forma:

$m_{WAI}$  - A massa de água remanescente recolhida após a incubação (g).

$C_{UV}$  - A concentração do fármaco na solução remanescente, medida por UV após incubação (mg/g).

$C_2$  - A estimativa da concentração de fármaco no hidrogel (mg/g) usando o método de carregamento B e baseada na análise UV da solução remanescente.

Note-se que a estimativa  $C_2$ , baseada na análise UV da solução remanescente, é especialmente sensível a erros quando a quantidade de fármaco incubada no hidrogel é baixa comparativamente ao total presente na solução (numerador da Equação (13) próximo de zero).

Considerando uma estimativa para a quantidade de fármaco incubada no hidrogel ( $C_0$ ,  $C_1$  ou  $C_2$ ), a concentração máxima expectável num processo de libertação é (usando, por exemplo,  $C_2$  como referência):

$$C_{MAX} = \frac{m_{HS} \times C_2}{m_{SA}} \quad (14)$$

Sendo:

$C_{MAX}$  - A estimativa da concentração máxima de fármaco na solução (mg/g) que se espera observar num dado teste de libertação.

$m_{HS}$  - A massa (g) de hidrogel incubado seco usada no teste de libertação.

$m_{SA}$  - A quantidade de solução (mg) usada no teste de libertação.

## 5.6. Testes de Liberação Controlada

Nas Tabelas 4 a 6 são descritos os testes de liberação realizados com os quatro fármacos modelo considerados neste trabalho. Foram escolhidos prioritariamente hidrogéis que garantissem uma elevada capacidade para serem estimulados por variações na temperatura, pH ou temperatura/pH (ver Capítulo 4). Foram usados materiais de diferentes famílias (hidrogéis aniônicos, catiónicos, anfotéricos, neutros) obtidos com diferentes condições de operação (polimerização por suspensão inversa/polimerização em solução) e considerando diferentes mecanismos cinéticos de formação dos produtos (polimerização FRP/polimerização RAFT). Tentou-se assim avaliar o efeito das condições de síntese no desempenho dos hidrogéis enquanto materiais de liberação controlada.

Nas Figuras 83 a 87 faz-se uma ilustração da sequência de passos envolvidos tipicamente na realização de um teste de liberação controlada (ver também Figuras 150 e 151 dos Anexos). Para os hidrogéis sintetizados em suspensão inversa (micropartículas de hidrogel), fez-se a pesagem da massa de hidrogel seco para os diferentes frascos (Figura 83). Dependendo dos estímulos requeridos, para cada teste, procedeu-se à estabilização da placa de aquecimento, bem como das soluções utilizadas. Para cada frasco (correspondente à amostragem a um tempo especificado), com auxílio da seringa, adicionou-se uma dada quantidade de solução (Figura 84). Passado o tempo estipulado, recolheu-se a amostra e procedeu-se à sua filtração (Figuras 85 e 86). Por último, realizaram-se as injeções das amostras utilizando o sistema de GPC (ilustrado fotograficamente na Figura 87). Este equipamento foi utilizado na medição das quantidades de fármaco libertadas ao longo do tempo e também para a análise dos produtos das polimerizações. Nesta ilustração, é apenas apresentado o módulo de bombagem do eluente, que em geral se consistiu em água com azida ( $\text{NaN}_3$ , para evitar o crescimento de bactérias nas colunas de cromatografia). Note-se que neste trabalho a quantificação das concentrações de fármacos foi feita através de espectroscopia UV considerando duas abordagens experimentais diferentes. Uma das opções (aqui designada por *modo aberto*) consiste na monitorização UV e quantificação da área do pico de fármaco no sistema de GPC, após ter percorrido as colunas cromatográficas e todo o sistema de deteção (deteção simultânea de índice de refração, dispersão da luz, viscosidade intrínseca e UV). Esta técnica tem a vantagem de permitir monitorizar em

simultâneo diferentes fármacos através da sua separação nas colunas cromatográficas. Este aspeto é especialmente relevante quando se pretende analisar a libertação de misturas de fármacos (dois ou mais fármacos incubados no mesmo hidrogel) e em consequência determinar a seletividade do processo de libertação controlada (sistemas não estudados neste trabalho). No entanto, para a monitorização de um só fármaco, este sistema apresenta desvantagens económicas substanciais dado que cada injeção (corresponde ao estudo de cada tempo de libertação) consome recursos importantes (filtros, eluentes, desgaste do sistema de bombagem, etc.) e é também extremamente morosa (ex. duas ou mais horas), o que tem um impacto negativo importante no tempo de vida da lâmpada UV (em geral limitada a cerca de 1000 horas). Uma alternativa prática, consiste na realização de medições de absorção UV em *modo fechado* em que a resposta global das amostras é medida por comparação com a absorção da  $W_{DI}$  pura. Esta última técnica foi neste trabalho usada para medições espectroscópicas de todas as amostras relativas à libertação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados em solução. Note-se que com a operação em *modo fechado* não é possível a monitorização simultânea de diferentes fármacos, o que constitui a sua principal desvantagem.

A realização de testes de libertação em diferentes frascos foi adotada com os hidrogéis sintetizados em suspensão inversa dada a sua morfologia sob a forma de micropartículas. De facto, usando um único recipiente de libertação, foram identificadas dificuldades experimentais na recolha da fase líquida devido ao arrastamento da fase sólida. Para além da variação da massa de hidrogel ao longo do tempo, haveria também nesse caso a possibilidade de injeção de partículas de hidrogel no sistema de GPC, o que deve ser evitado para não danificar as colunas de SEC. Com os hidrogéis sintetizados em solução, por se apresentarem sob a forma de massa contínua (ou partículas macroscópicas após a trituração), foi possível adotar um procedimento mais simples: pesou-se a quantidade requerida de hidrogel incubado seco (tipicamente entre 0,3 e 0,4 g) e colocou-se este material em 80 mL de solução aquosa nas condições selecionadas para o teste. Após esse instante, iniciou-se a contagem do tempo e retiraram-se amostras da solução aquosa em momentos previamente definidos. Em cada instante de amostragem, foram retirados 2 mL de solução aquosa para análise e repostos 2 mL limpos da mesma solução de modo a garantir que o volume de líquido no meio de libertação se mantivesse constante. As amostras retiradas foram posteriormente analisadas para determinação da concentração de fármaco na solução aquosa.

Os resultados obtidos para as quantidades de fármacos libertadas podem ser expressos de diferentes formas, nomeadamente:

$C(t)$  – Representa a concentração efetiva de fármaco (mg/g) medida por UV na solução aquosa no instante de libertação  $t$ .

$\alpha_{MAX}(t)$  - Representa a fração de fármaco libertada até ao instante  $t$ , tomando como referência uma estimativa para a concentração máxima de fármaco esperada ( $C_{MAX}$ , conforme definido na Equação 14).

$$\alpha_{MAX}(t) = \frac{C(t)}{C_{MAX}} \quad (15)$$

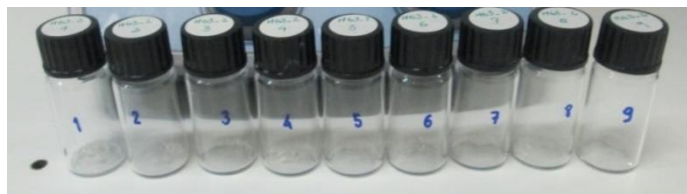
$\alpha_{NOR}(t)$  - Representa a fração de fármaco libertada até ao instante  $t$ , tomando como referência o máximo de concentração observado nesse teste, que em geral corresponde à concentração de equilíbrio (valor observado para um tempo de libertação suficientemente longo).

$$\alpha_{NOR}(t) = \frac{C(t)}{C_{EQ}} \quad (16)$$

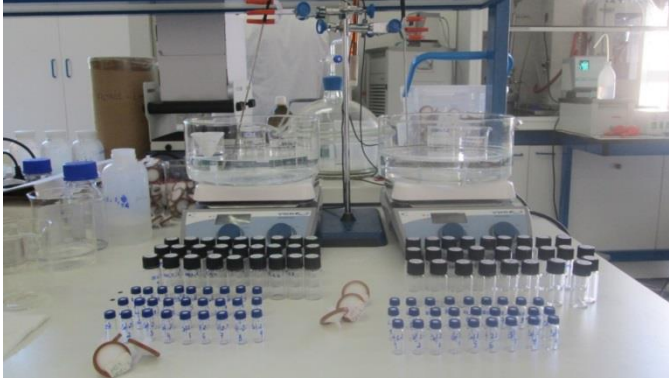
$C_{HS}(t)$  - Representa a quantidade de fármaco libertada por unidade de massa de hidrogel seco (mg/g) até ao instante  $t$ .

$$C_{HS}(t) = \frac{C(t) \times m_{SA}}{m_{HS}} \quad (17)$$

Estas diferentes formas de análise dos resultados de libertação foram exploradas na descrição dos resultados obtidos (ver Figuras 88 a 128, Anexos A a X e discussão abaixo apresentada).



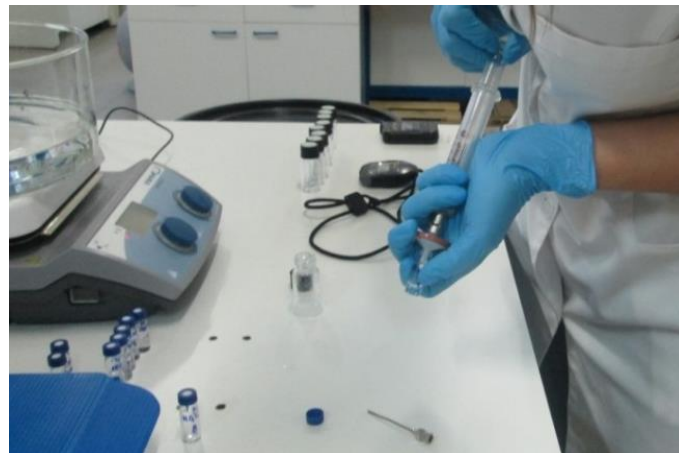
**Figura 83:** Ilustração fotográfica de um conjunto de frascos contendo hidrogel incubado com fármaco (no caso HG3/cafeína) para posterior utilização em testes de libertação controlada. Cada frasco correspondente a um tempo de libertação pré-estabelecido. A realização do processo de libertação é feita através da adição de solução aquosa nas condições do estímulo selecionado (ex.  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$ ). Condições típicas do teste de libertação em cada tempo selecionado (ver também Tabela 4):  $\sim 0,005\text{ g}$  de hidrogel incubado + 10 mL de solução aquosa. Se necessário (ex. para garantir temperatura constante ao longo do tempo), os frascos são colocados num banho termostático.



**Figura 84:** Ilustração fotográfica de testes de liberação controlada de fármacos realizados considerando diferentes estímulos (ex.  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Condições típicas dos testes de liberação em cada tempo selecionado (ver também Tabela 4):  $\sim 0,005\text{ g}$  de hidrogel +  $10\text{ mL}$  solução aquosa nas condições do estímulo considerado. O processo de filtração da amostra recolhida para posterior injeção no GPC é um aspecto importante, conforme abaixo discutido.



**Figura 85:** Ilustração fotográfica do processo de recolha de uma amostra ( $\sim 2\text{ mL}$ ) relativa ao estudo da liberação de um fármaco a partir de um hidrogel sintetizado por suspensão inversa. Condições típicas do teste de liberação em cada tempo selecionado (ver também Tabela 4):  $\sim 0,005\text{ g}$  de hidrogel +  $10\text{ mL}$  solução aquosa nas condições do estímulo considerado (ex.  $\text{pH}=7,5$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).



**Figura 86:** Filtração de amostra recolhida no processo de liberação de um fármaco ( $\sim 2\text{ mL}$ ) para posterior análise em modo de GPC (*modo aberto* como ilustrado na Figura 87). A utilização de filtros é nestes sistemas bastante importante para impedir que partículas de hidrogel sejam injetadas no sistema de GPC (foram utilizados filtros da marca Whatman com membrana de celulose, ideais para sistemas aquosos, e com porosidade de  $0,45\text{ }\mu\text{m}$ ).



**Figura 87:** Ilustração fotográfica do equipamento de GPC utilizado para a análise dos produtos das polimerizações e na medição das quantidades de fármaco libertadas ao longo do tempo (mostra-se aqui apenas o módulo de bombagem do eluente que em geral consistiu em água com azida). Neste trabalho, a quantificação das concentrações de fármacos foi feita através de espectroscopia UV considerando duas abordagens experimentais diferentes: o *modo aberto* em que se monitoriza o pico de fármaco no sistema de GPC (representado nesta figura) e o *modo fechado* em que a absorção UV global das amostras é medida por comparação com a absorção da  $W_{DI}$  pura.

## 5.7. Processo de Recuperação dos Hidrogéis

Visto ser a síntese de hidrogéis um processo que envolve custos elevados, tentou-se ao longo de todo o processo de caracterização e liberação recuperar todas as massas de hidrogel utilizadas. Após cada teste de caracterização, recolheu-se toda a massa de hidrogel dos filtros de papel e colocou-se numa estufa de vácuo. Passados cerca de 3 dias recolheu-se a massa e triturou-se novamente o polímero com auxílio de um almofariz e respetivo pilão (Figuras 138 a 140 dos Anexos). Para hidrogéis carregados com fármacos o processo foi mais demorado. Colocou-se toda a massa com um grande excesso de água desionizada durante 8 dias para que o fármaco fosse libertado. Posto isto, realizou-se a filtração do hidrogel e este foi levado para uma estufa de vácuo, durante cerca de 3 dias, para garantir que estava completamente seco. Por último, para verificar se o hidrogel não continha fármaco colocou-se uma pequena quantidade de hidrogel ( $\sim 0.02$  g) em 10 mL de água desionizada, num banho a  $37$  °C durante 12 horas, e injetou-se no sistema de GPC. Verificou-se a ausência de fármaco quando não foi visível qualquer pico no detetor UV na gama de comprimento de onda do fármaco em questão.

## 5.8. Modelos de Ajuste dos Dados Experimentais

Na tentativa de obter uma descrição mecanicista do processo de liberação dos fármacos a partir da matriz dos hidrogéis, foram consideradas simplificações de modelos matemáticos existentes na literatura, nomeadamente [5,19], para liberação a partir de hidrogéis sob a forma de películas planas e partículas esféricas.

- Películas planas:

$$\frac{C(t)}{C(\infty)} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} e^{-\frac{D(2n+1)^2 \pi^2 t}{L^2}} \quad (18)$$

- Esferas:

$$\frac{C(t)}{C(\infty)} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{n^2} e^{-\frac{Dn^2 \pi^2 t}{R^2}} \quad (19)$$

Existem também disponíveis na literatura modelos para a liberação de fármacos a partir de partículas cilíndricas [5,19]. Em todos os casos, é possível fazer a simplificação desses modelos e usar as aproximações relativas a leis de subida exponencial ou leis de potência:

- Modelo de subida exponencial:

$$C(t) = a_1 + a_2 (1 - e^{a_3 t}) \quad (20)$$

- Modelo de potência (também designado por equação de *Peppas* [19, capítulo 1]):

$$C(t) = a_1 t^{a_2} \quad (21)$$

Nas Tabelas 14 a 20 dos Anexos deste trabalho são apresentados os parâmetros de ajuste ( $a_1$ ,  $a_2$  e  $a_3$ ), e correspondentes coeficientes de correlação, obtidos com dados experimentais referentes a diferentes testes de liberação. Nos testes envolvendo hidrogéis sintetizados em solução foram obtidos bons resultados de ajuste com o modelo exponencial. Na tentativa de melhorar a descrição dos resultados obtidos com hidrogéis sintetizados por suspensão inversa, para além do modelo exponencial, foi também considerado o modelo de potência. No entanto, não foram observadas diferenças significativas (em geral foram até obtidos piores ajustes), o que parece indicar uma dispersão demasiado elevada dos resultados experimentais devido à dificuldade em lidar com as micropartículas de hidrogel.

**Tabela 4:** Resumo dos testes de liberação controlada realizados com hidrogéis sintetizados por suspensão inversa.

Teste	Carregamento									Libertação				
	Hidrogel	Fármaco	Quantidade Fármaco (mg)	Quantidade Hidrogel (g)	Quantidade Solução (mL)	Concentração de Fármaco na solução (mg/mL)	Concentração de Fármaco na solução medida por UV (mg/mL)	Método de carregamento	Concentração estimada de Fármaco no hidrogel seco (mg/g)	Estímulos	Massa de hidrogel seco em cada ensaio (g)	Quantidade de solução adicionada (mL)	Estimativa da concentração máxima de fármaco na solução (mg/mL)	Tempos de liberação ensaiados (min)
1	HG7	Cafeína	6,6	0,40	20,04	0,33	0,35	A	16,36	T=22 °C T=37 °C	~0,02	2	0,16	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 180
2	HG2	Cafeína	180,1	0,40	80,11	2,25	1,25	A	450,02	T=22 °C/pH 7,5 T=37 °C/pH 1,2	~0,02	10	0,90	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 180
3	HG3	Cafeína	180,9	0,40	81,76	2,21	1,25	A	451,57	T=22 °C/pH 7,5 T=37 °C/pH 1,2	~0,02	10	0,90	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 120; 180; 1560
4	HG5	Cafeína	184,0	0,40	80	2,3	1,29	A	456,80	T=22 °C T=37 °C	~0,005	10	0,23	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 120; 180; 1560
5	HG6	Cafeína	182,3	0,40	80	2,28	1,29	A	452,13	T=22 °C T=37 °C	~0,005	10	0,23	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 120; 180; 1560
6	HG2	5-FU	87,7	0,40	79,34	1,11	0,49	A	217,19	T=22 °C/pH 7,5 T=37 °C/pH 1,2	~0,005	10	0,11	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 120; 180
7	HG2	INH	80,6	0,41	80,92	1,00	0,39	A	197,93	T=22 °C/pH 7,5 T=37 °C/pH 1,2	~0,005	10	0,10	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 120; 180
8	HG4	5-FU	84,9	0,40	80,17	1,06	0,88	A	210,72	T=22 °C/pH 7,5 T=37 °C/pH 1,2	~0,005	10	0,11	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 120; 180
9	HG4	Cafeína	185	0,40	80,15	2,31	1,21	A	459,97	T=22 °C/pH 7,5 T=37 °C/pH 1,2	~0,005	10	0,23	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 120; 180
10	HG4	Cafeína	181,4	0,40	80,14	2,26	1,1	B	449,12	T=22 °C/pH 7,5 T=37 °C/pH 1,2	~0,005	10	0,22	0,25; 0,5; 1; 5; 10; 30; 60; 120; 180

A) Hidrogel em solução de fármaco à temperatura ambiente durante 48 hr. Evaporação posterior de todo o líquido em estufa de vácuo. Hidrogel seco resultante contém todo o fármaco usado.

B) Hidrogel em solução de fármaco à temperatura ambiente durante 48 hr com filtração posterior e recolha do hidrogel. Secagem do hidrogel em estufa de vácuo. Hidrogel seco resultante contém uma quantidade de fármaco inferior à quantidade usada.

**Tabela 5:** Dados para comparação do processo de incubação de fármacos através da quantificação do inchamento do hidrogel ou da análise UV da solução aquosa remanescente. Nesta análise foram apenas considerados hidrogéis sintetizados em solução.

<b>Hidrogel</b>	<b>Fármaco</b>	<b>m<sub>1</sub></b> <b>(g)</b>	<b>m<sub>2</sub></b> <b>(g)</b>	<b>m<sub>3</sub></b> <b>(mg)</b>	<b>m<sub>SH</sub></b> <b>(g)</b>	<b>m<sub>WAI</sub></b> <b>(g)</b>	<b>C<sub>UV</sub></b> <b>(mg/g)</b>	<b>C<sub>1</sub></b> <b>(mg/g)</b>	<b>C<sub>2</sub></b> <b>(mg/g)</b>
<b>HGS1</b>	<b>5-FU</b>	0,6921	160,1666	198,4	9,3354	147,3326	NA	15,4696	NA
<b>HGS2</b>	<b>5-FU</b>	0,8416	160,2358	205,2	44,9760	100,2353	NA	67,1567	NA
<b>HGS3</b>	<b>5-FU</b>	0,8092	161,2040	202,3	6,8295	152,5782	NA	9,3365	NA
<b>HGS4</b>	<b>5-FU</b>	0,7952	158,1605	199,9	4,5229	154,6327	1,2126	5,9230	15,5832
	<b>INH</b>	0,7808	158,1769	202,7	4,9341	154,2263	0,9971	6,8165	62,6549
<b>HGS5</b>	<b>5-FU</b>	0,8015	160,3926	200,0	26,5197	134,8744	0,9878	40,0125	83,3023
	<b>INH</b>	0,8023	159,6177	203,5	16,5702	144,0533	1,2881	25,0565	22,3669
<b>HGS6</b>	<b>5-FU</b>	0,7952	160,7257	200,6	3,7399	157,9816	1,0264	4,6218	48,3497
	<b>IBU</b>	0,8004	162,2267	201,9	2,8370	160,3920	0,4762	3,1667	156,8233
	<b>INH</b>	0,8009	159,3596	204,3	5,9325	154,4323	NA	8,2142	NA
	<b>CAF</b>	0,8100	157,7262	199,9	3,8577	154,8784	1,1763	4,7687	21,8723
<b>HGS7</b>	<b>5-FU</b>	0,7987	164,0142	203,4	2,4005	162,6158	1,0490	2,4871	41,0868
	<b>IBU</b>	0,8100	157,7262	197,7	1,6196	157,1143	0,3065	1,2528	184,6228
	<b>INH</b>	0,8028	156,5061	200,8	2,3991	155,1106	NA	2,5512	NA
	<b>CAF</b>	0,8070	156,6263	200,2	2,6810	154,9525	1,2116	2,9682	15,4393

**Tabela 6:** Descrição dos testes de liberação realizados combinando diferentes fármacos com diferentes hidrogéis sintetizados em solução.

<b>Fármaco</b>	<b>Hidrogel</b>	<b><i>m</i> HG incubado [g]</b>	<b>pH</b>	<b>T [°C]</b>
<b>5-FU</b>	<b>HGS1</b>	0,2811	≈7	25
		0,2847	≈7	37
	<b>HGS2</b>	0,4177	1	25
		0,4132	10	25
	<b>HGS3</b>	0,3644	1	25
		0,3674	10	25
	<b>HGS4</b>	0,4146	1	25
0,4183		10	25	
<b>HGS5</b>	0,3112	1	25	
	0,3137	10	25	
<b>HGS6</b>	0,3013	1	25	
	0,2987	8	25	
<b>HGS7</b>	0,3514	1	25	
	0,3161	8	25	
<b>INH</b>	<b>HGS4</b>	0,3710	1	25
		0,3753	10	25
	<b>HGS5</b>	0,1880	1	25
		0,3753	10	25
<b>HGS6</b>	0,3650	1	25	
	0,3422	8	25	
<b>HGS7</b>	0,3508	1	25	
	0,3810	8	25	
<b>IBU</b>	<b>HGS6</b>	0,3289	1	25
		0,3408	8	25
<b>HGS7</b>	0,3544	1	25	
	0,3373	8	25	
<b>CAF</b>	<b>HGS6</b>	0,3508	1	25
		0,9462	8	25
	<b>HGS7</b>	0,3596	1	25
		0,3437	8	25

## 5.9. Resultados de Libertação de Fármacos

Nesta secção apresentam-se os resultados obtidos nos testes de libertação controlada de fármacos. Os testes aqui analisados encontram-se descritos nas Tabelas 4 a 6. É aqui também feita uma discussão dos resultados obtidos e analisados os efeitos da composição química (ex. tipos de monómeros), morfologia (produção em suspensão inversa/solução) e técnicas de síntese (FRP/RAFT) dos hidrogéis no seu desempenho.

### 5.9.1. Libertação de Fármacos a partir de Hidrogéis Sintetizados por Suspensão Inversa

Nas Figuras 88 e 89 apresenta-se a comparação da dinâmica de libertação de cafeína a partir do hidrogel HG7 (NIPA com síntese FRP) quando colocado em soluções aquosas a 25 e 37 °C. Os resultados de libertação são descritos na Figura 88 em termos da quantidade de fármaco libertada por unidade de massa de hidrogel seco (mg/g) até ao instante  $t$ :  $C_{HS}(t)$ . Na Figura 89 a dinâmica de libertação de cafeína é representada usando  $\alpha_{NOR}(t)$  como variável dependente (fração de fármaco libertada tomando como referência o máximo de concentração observado). Os dados experimentais foram ajustados a um modelo de subida exponencial. Estes resultados mostram uma rápida libertação do fármaco (ao fim de cerca de 10 min foi observada a libertação de uma quantidade assinalável de cafeína) o que poderá ser uma consequência do reduzido tamanho das partículas de hidrogel (sintetizado em suspensão inversa) e também do método de carregamento usado (neste caso o método A). Aparentemente, há também alguma seletividade na libertação por efeito da temperatura mas os dados experimentais apresentam uma dispersão demasiado elevada para que se possam tirar conclusões definitivas sobre este aspeto. Conforme foi referido nas secções anteriores, esta dispersão poderá resultar de dificuldades experimentais associadas à variação da massa de hidrogel, devido também ao pequeno tamanho das partículas, e à passagem de material para a seringa e filtros de amostragem. Resultados análogos são apresentados nas Figuras 90 e 91 para a libertação de cafeína a partir de HG2 (NIPA/AA) por efeito combinado da temperatura e pH. Os resultados mostram novamente uma rápida dinâmica de libertação subsistindo também uma elevada dispersão nos valores

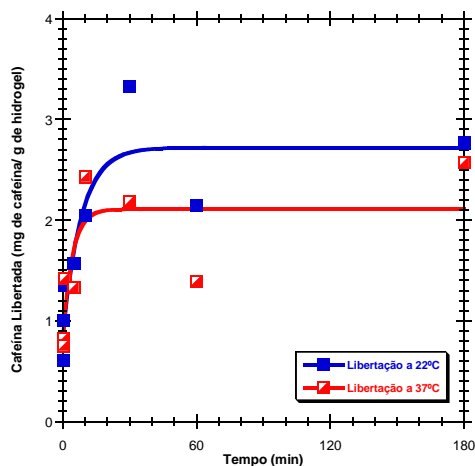
observados, especialmente para tempos longos. Nestes casos verificam-se taxas mais elevadas a  $37\text{ °C}/\text{pH}=1,2$  comparativamente às medidas a  $22\text{ °C}/\text{pH}=7,5$ .

Nas Figuras 92 e 93 apresentam-se os dados obtidos para a dinâmica de libertação de cafeína a partir do hidrogel HG3 (NIPA/MAA) considerando como estímulo a variação conjugada de pH e temperatura ( $22\text{ °C}/\text{pH}=7,5$  e  $37\text{ °C}/\text{pH}=1,2$ ). Deve assinalar-se a aparente boa qualidade dos resultados experimentais obtidos neste ensaio e a elevada seletividade do hidrogel aos estímulos considerados. De facto, são observadas para este sistema dinâmicas de libertação muito diferenciadas, com taxas muito mais elevadas a  $37\text{ °C}/\text{pH}=1,2$  comparativamente às medidas a  $22\text{ °C}/\text{pH}=7,5$ . Uma elevada seletividade na dinâmica de libertação de cafeína foi também observada com HG5 (NIPA/TAO) quando se comparam os resultados a duas temperaturas diferentes ( $22\text{ °C}$  e  $37\text{ °C}$ , conforme mostrado nas Figuras 94 e 95). Deve no entanto assinalar-se a inversão da seletividade reportada nas Figuras 92 e 93 o que aparentemente parece indicar o efeito de considerar também o pH como estímulo e/ou a importância da composição química do hidrogel (HG3 contém grupos iónicos devido à presença de MAA). De facto, os resultados apresentados nas Figuras 96 e 97, quando comparados com os dados apresentados nas Figuras 94 e 95, parecem reforçar que mesmo o tipo de reticulante usado condiciona o desempenho dos hidrogéis (HG5 com NIPA/TAO e HG6 com NIPA/TMPTA).

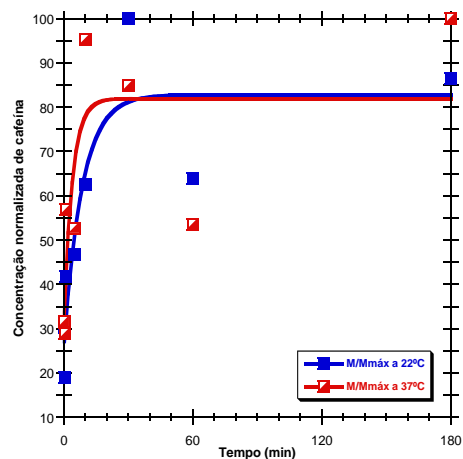
A dinâmica de libertação de 5-FU a partir do hidrogel HG2 (NIPA/AA) com variação combinada T/pH é apresentada nas Figuras 98 e 99. Apesar de os dados experimentais mostrarem alguma dispersão, parece ser clara uma aceleração da libertação do fármaco a  $37\text{ °C}/\text{pH}=1,2$  comparativamente a  $22\text{ °C}/\text{pH}=7,5$ . Nas Figuras 100 e 101 pode observar-se a dinâmica de libertação de INH a partir do mesmo hidrogel e considerando os mesmos estímulos. Embora aparentemente o efeito da alteração das condições circundantes do hidrogel na libertação do fármaco pareça o mesmo, a dispersão dos dados é demasiado elevada para que seja possível obter conclusões definitivas sobre esta possível seletividade. Pela mesma razão, as dinâmicas apresentadas nas Figuras 102 e 103, embora parecendo apresentar uma tendência semelhante, não permitem avaliar com precisão a seletividade na libertação de 5-FU a partir de HG4 (NIPA/MAA) quando comparados os estímulos  $T=37\text{ °C}/\text{pH}=1,2$  com  $T=22\text{ °C}/\text{pH}=7,5$ . Um padrão semelhante foi observado nas mesmas condições para a libertação de cafeína a partir de HG4 (Figuras 104 e 105). No entanto, os resultados apresentados nas Figuras 106 e 107, referentes ao mesmo sistema de libertação mas considerando o método de incubação B,

mostram uma inversão da tendência atrás descrita, o que torna difícil estabelecer linhas gerais de comportamento dos materiais sintetizados por suspensão inversa na liberação de fármacos.

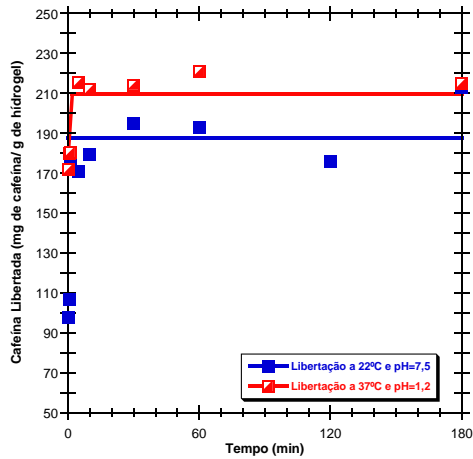
Os resultados apresentados nas Figuras 88 a 107 estão reproduzidos nos apêndices A a F mas considerando o ajuste dos dados experimentais ao modelo de potência. Tentou-se desta forma avaliar a possibilidade de melhoria das linhas de tendência das dinâmicas de liberação. No entanto, na generalidade dos casos, obteve-se uma descrição mais pobre destes processos. De facto, grande parte dos resultados obtidos na liberação de fármacos a partir de hidrogéis obtidos por suspensão inversa, parecem estar afetados por uma elevada dispersão devida a dificuldades experimentais nas medições. A morfologia destes materiais (micropartículas) é uma causa possível para as dificuldades enfrentadas na obtenção de dados precisos de liberação de fármacos.



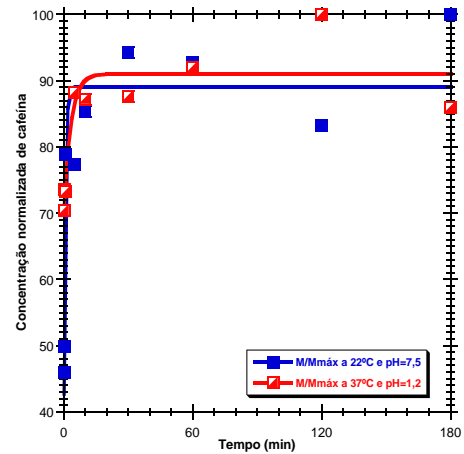
**Figura 88:** Valores observados para a liberação de cafeína ao longo do tempo a partir do hidrogel HG7 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada (Teste 1 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



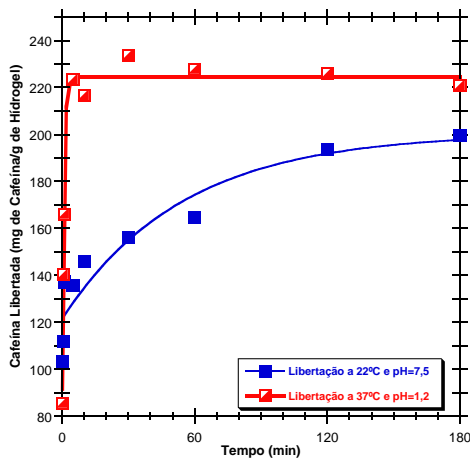
**Figura 89:** Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG7 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada (Teste 1 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



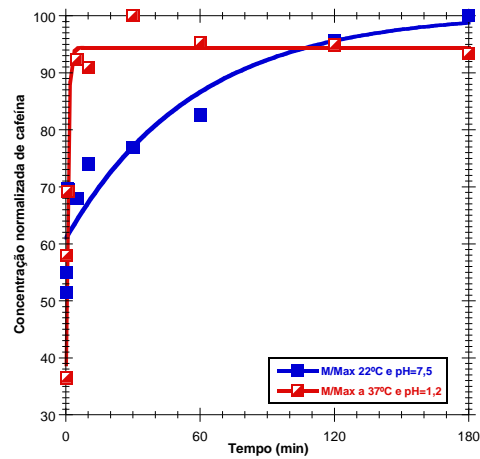
**Figura 90:** Valores observados para a liberação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 2 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



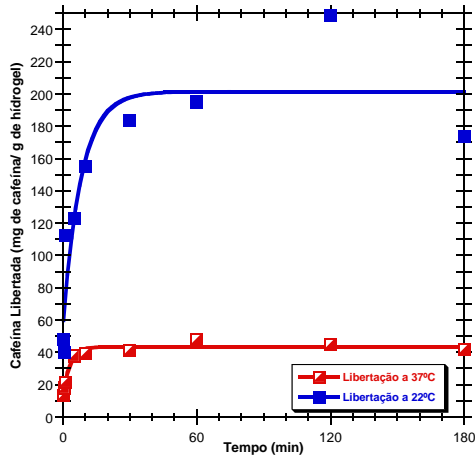
**Figura 91:** Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 2 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



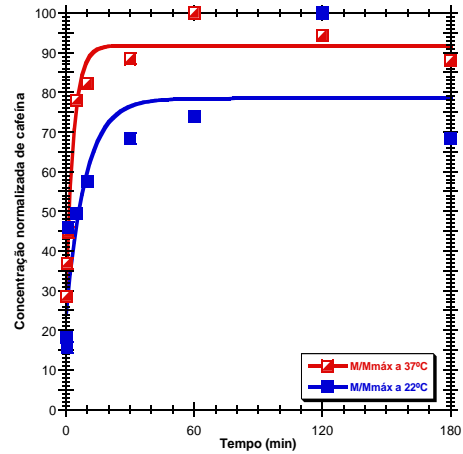
**Figura 92:** Valores observados para a liberação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG3 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 3 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



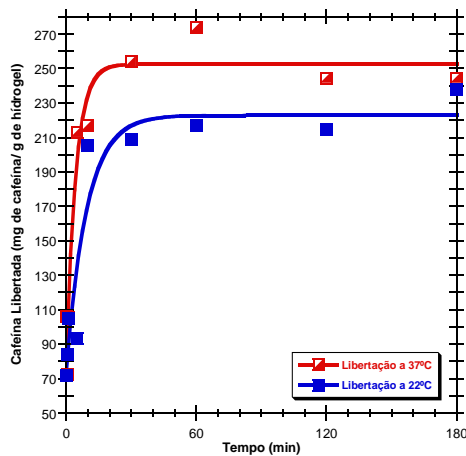
**Figura 93:** Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG3 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 3 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



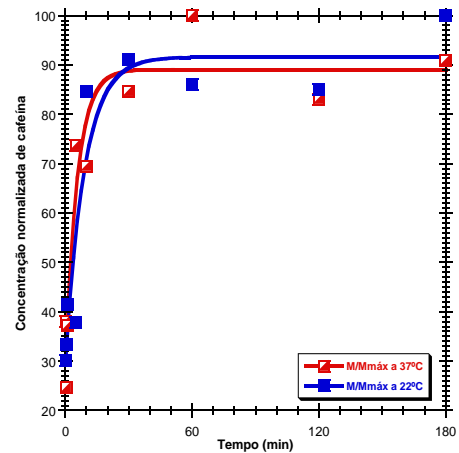
**Figura 94:** Valores observados para a liberação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG5 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada (Teste 4 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



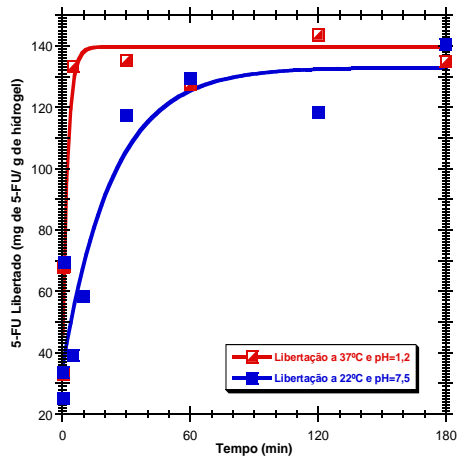
**Figura 95:** Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG5 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada (Teste 4 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



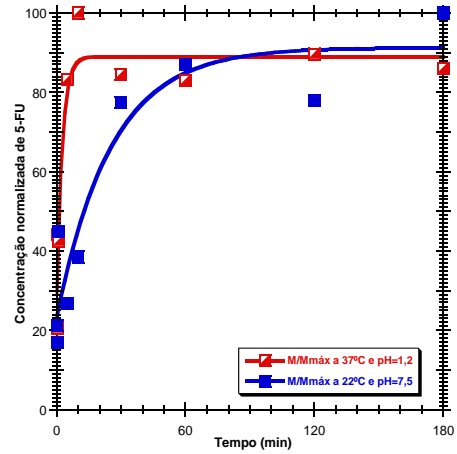
**Figura 96:** Valores observados para a liberação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG6 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada (Teste 5 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



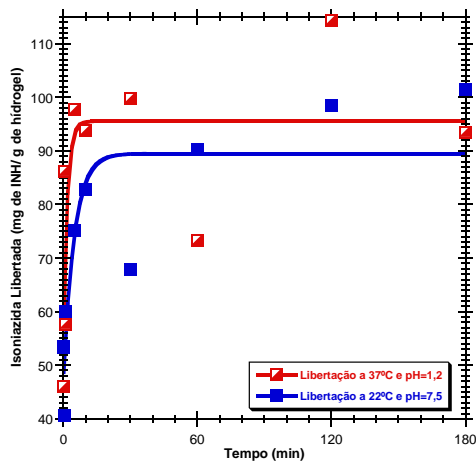
**Figura 97:** Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG6 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ /água desionizada (Teste 5 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



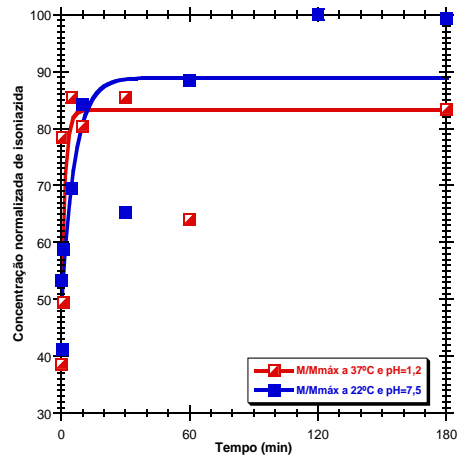
**Figura 98:** Valores observados para a liberação ao longo do tempo de 5-FU a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 6 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de 5-FU nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



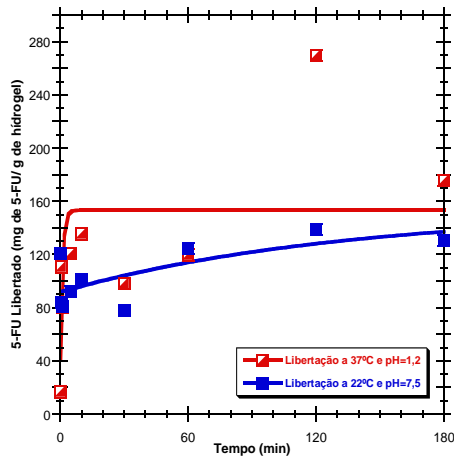
**Figura 99:** Valores observados para a concentração normalizada de 5-FU (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 6 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de 5-FU nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



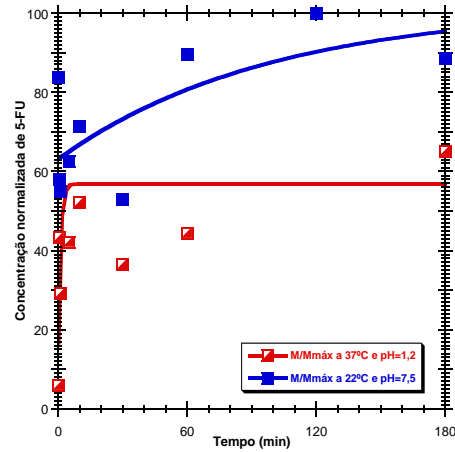
**Figura 100:** Valores observados para a liberação ao longo do tempo de INH a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 7 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de INH nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



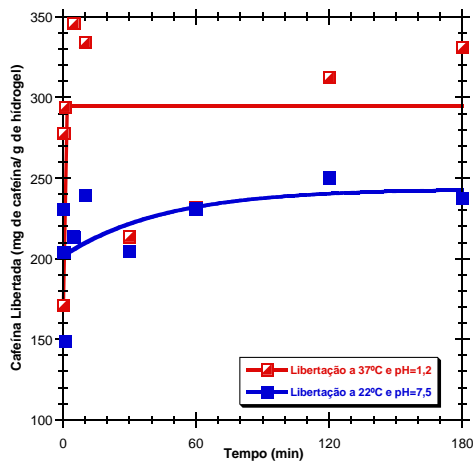
**Figura 101:** Valores observados para a concentração normalizada de INH (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG2 em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$  (Teste 7 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de INH nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



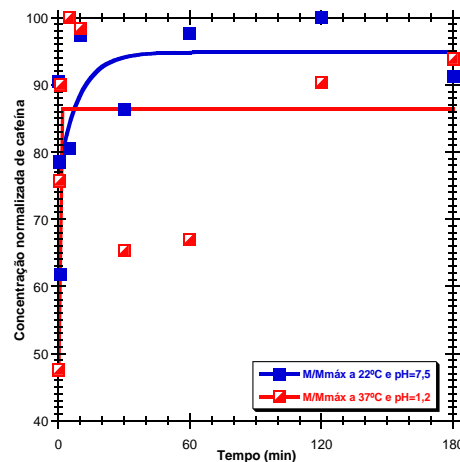
**Figura 102:** Valores observados para a liberação ao longo do tempo de 5-FU a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a T=37 °C/pH=1,2 e T=22 °C/pH=7,5 (Teste 8 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de 5-FU nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



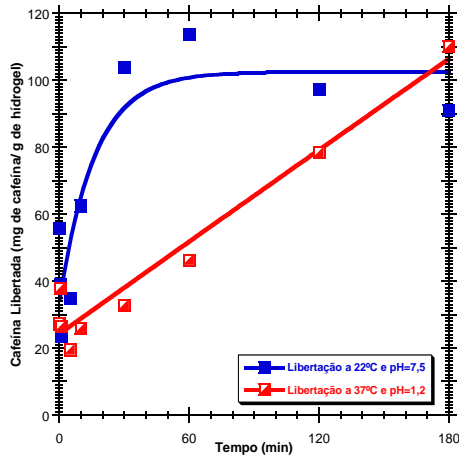
**Figura 103:** Valores observados para a concentração normalizada de 5-FU (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a T=37 °C/pH=1,2 e T=22 °C/pH=7,5 (Teste 8 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de 5-FU nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial.



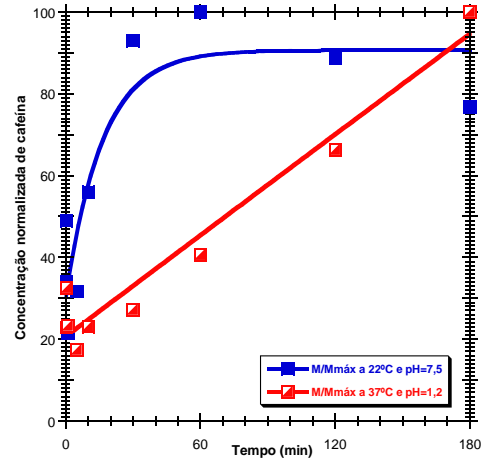
**Figura 104:** Valores observados para a liberação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a T=37 °C/pH=1,2 e T=22 °C/pH=7,5 (Teste 9 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de Cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação das partículas A.



**Figura 105:** Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a T=37 °C/pH=1,2 e T=22 °C/pH=7,5 (Teste 9 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de Cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação das partículas A.



**Figura 106:** Valores observados para a liberação ao longo do tempo de cafeína a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a T=37 °C/pH=1,2 e T=22 °C/pH=7,5 (Teste 10 na Tabela 4). A quantidade libertada está expressa em mg de fármaco por g de hidrogel. Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação das partículas B.



**Figura 107:** Valores observados para a concentração normalizada de cafeína (usando o máximo medido como referência) na sua liberação ao longo do tempo a partir do hidrogel HG4 em soluções aquosas a T=37 °C/pH=1,2 e T=22 °C/pH=7,5 (Teste 10 na Tabela 4). Os dados experimentais relativos à concentração de cafeína nas soluções aquosas foram obtidos através de espectroscopia UV. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo de subida exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação das partículas B.

## 5.9.2. Liberação de Fármacos a partir de Hidrogéis Sintetizados em Solução

Nas Figuras 108 a 122 apresentam-se os resultados referentes às dinâmicas de liberação de fármacos medidas para os 15 testes descritos na Tabela 6. Os resultados estão apresentados nessas figuras em termos da fração de fármaco libertada até ao instante  $t$ ,  $\alpha_{MAX}(t)$ , tomando como referência uma estimativa para a concentração máxima de fármaco esperada. Em todos esses gráficos foi escolhida como  $C_{MAX}$  a concentração correspondente à medição por UV da solução remanescente do processo de incubação ( $C_2$ , conforme descrito na secção 5.5.2). Nos anexos G a U deste trabalho podem ser encontradas algumas formas alternativas de descrever essas dinâmicas de liberação.

Na Figura 108 é apresentada a dinâmica de liberação de 5-FU a partir de HGS2 (AA/FRP) quando colocado em soluções aquosas a pH=1 e pH=10. É de assinalar a muito baixa dispersão dos resultados experimentais comparativamente à maioria dos casos descritos com partículas obtidas por suspensão inversa. Este e outros resultados referentes a liberação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados em solução indicam

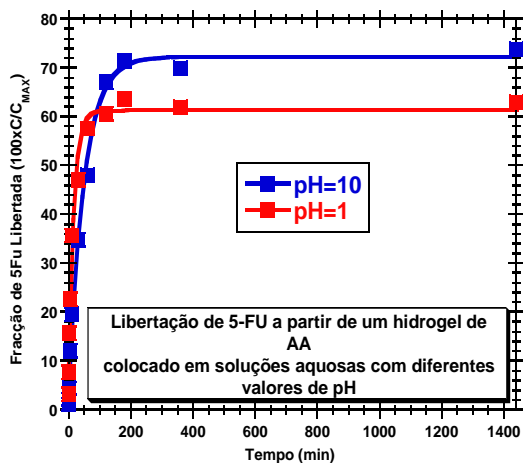
que a morfologia dos produtos de suspensão deverá estar na origem das dificuldades atrás referidas. Resultados semelhantes são apresentados na Figura 109 para HGS4 (AA/RAFT). Em ambos os casos foi observado um ligeiro aumento da fração libertada quando se considera  $\text{pH}=10$ . Note-se que em todos os resultados apresentados nesta secção se verifica um bom ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial, o que confirma a boa qualidade das medições experimentais.

Nas Figuras 110 e 111 são apresentados os resultados da dinâmica de libertação de 5-FU a partir dos hidrogéis anfotéricos DMAEMA/MAA com síntese FRP e RAFT, respetivamente, considerando dois valores de  $\text{pH}$  ( $\text{pH}=1$  e  $\text{pH}=8$ ). É de realçar em ambos os casos a baixa fração de fármaco libertada e também a reduzida seletividade destes materiais na libertação estimulada pelo  $\text{pH}$ . A dinâmica de libertação de 5-FU a partir de hidrogéis catiónicos de DMAEMA (estimulados através da variação de  $\text{pH}=1/10$ ) com síntese FRP e RAFT é apresentada nas Figuras 112 e 113, respetivamente. Note-se a maior seletividade do hidrogel RAFT (maior libertação a  $\text{pH}=1$ ) relativamente ao análogo FRP o que mostra o impacto das condições de síntese no desempenho dos hidrogéis. É também de assinalar que, com a referência usada (análise UV da solução remanescente), as taxas de libertação superam 100% o que resulta da dificuldade atrás assinalada em obter com precisão a quantidade de fármaco incubada quando se usa o método de carregamento B.

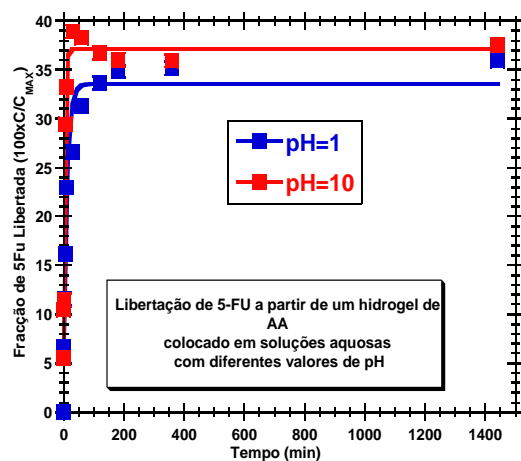
Uma enorme seletividade na libertação de 5-FU, por efeito da temperatura ( $25/37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), foi observada com o hidrogel HGS1 (NIPA/FRP), conforme reportado na Figura 114. Uma muito maior taxa de libertação foi observada a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  (hidrogel colapsado) comparativamente a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  (hidrogel inchado).

As Figuras 115 a 118 mostram as dinâmicas de libertação de CAF e IBU a partir de hidrogéis anfotéricos (DMAEMA/MAA) com síntese por FRP e RAFT (HGS6 e HGS7). Nos quatro casos foi avaliado o efeito do  $\text{pH}$  (1 (ácido)/8 (alcalino)) na libertação dos fármacos. Estes dados revelam que as combinações químicas hidrogel/fármaco também afetam os processos de libertação dos fármacos. De facto, com CAF, em ambos os casos, foram observadas taxas de libertação muito baixas e uma reduzida sensibilidade ao efeito do  $\text{pH}$ . Com IBU, as taxas de libertação aumentaram razoavelmente, sendo a libertação do fármaco favorecida a  $\text{pH}=8$ , comparativamente a  $\text{pH}=1$ . O facto do IBU se apresentar ionizado e ser mais solúvel em soluções aquosas alcalinas deverá estar na origem das diferenças observadas.

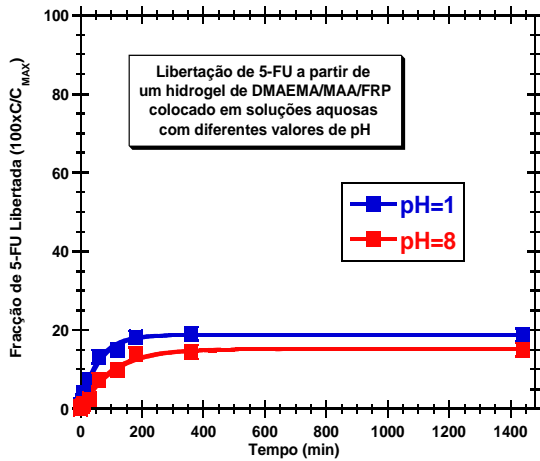
As Figuras 119 a 122 reforçam o impacto da combinação fármaco/hidrogel e do processo de síntese dos hidrogéis/arquitetura molecular (FRP/RAFT/co-monomeros envolvidos) no seu desempenho enquanto materiais para liberação controlada. De facto, uma boa seletividade foi observada na liberação de INH a partir de hidrogéis aniônicos (AA) e catiónicos (DMAEMA) com síntese RAFT (Figuras 119 e 122, respetivamente), sendo o processo favorecido em ambos os casos a pH=1 comparativamente a pH=10. Um efeito assinalável na liberação deste fármaco ocorre com o hidrogel HGS5 (DMAEMA/RAFT) com cerca de 100% observados a pH=1 e 40% a pH=10 (Figura 122). De forma contrária, apesar das enormes taxas de liberação estimadas (questão relacionada com a referência de incubação, conforme atrás descrito), as Figuras 120 e 121 mostram uma baixa seletividade por efeito do pH na liberação de INH a partir de hidrogéis anfotéricos DMAEMA/MAA (considerando síntese FRP ou RAFT). Note-se que a solubilidade do fármaco no meio de liberação (ex. variação da sua solubilidade com o pH/temperatura do meio aquoso) e possíveis interações positivas/negativas com a rede de polímero (ex. ionização de grupos) são também aspetos importantes no projeto de sistemas de liberação controlados baseados em hidrogéis.



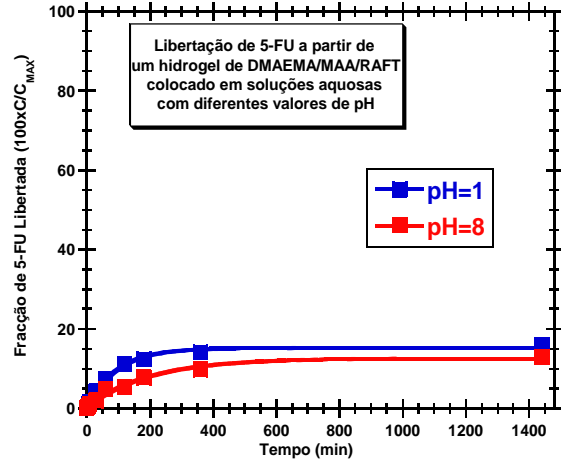
**Figura 108:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel de AA (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



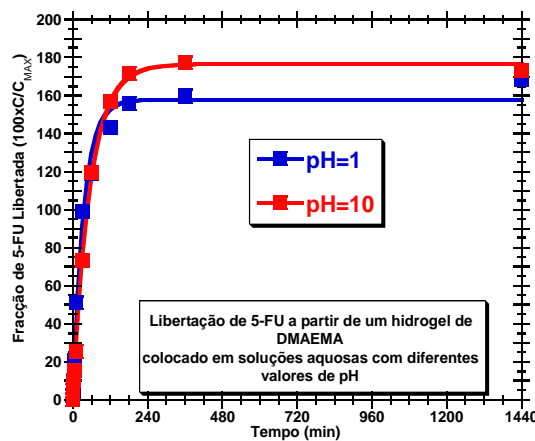
**Figura 109:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel de AA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



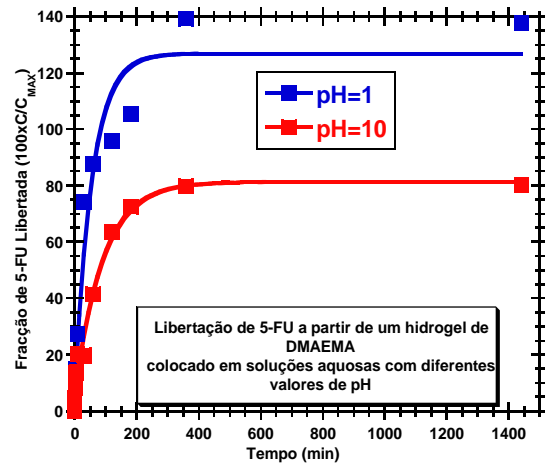
**Figura 110:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel HGS6 de DMAEMA/MAA/FRP (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



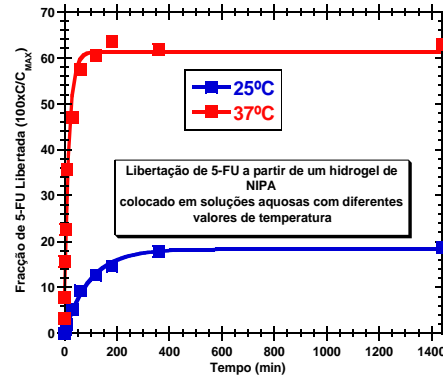
**Figura 111:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel HGS7 de DMAEMA/MAA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



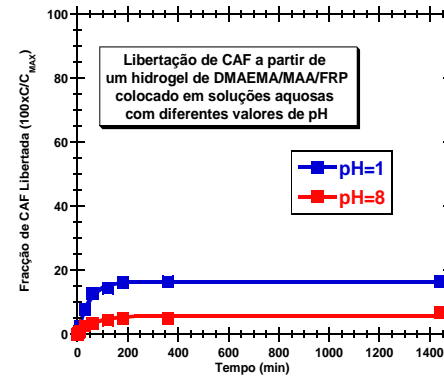
**Figura 112:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel de DMAEMA (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



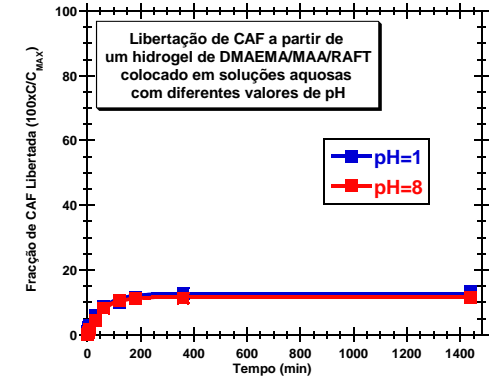
**Figura 113:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel de DMAEMA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



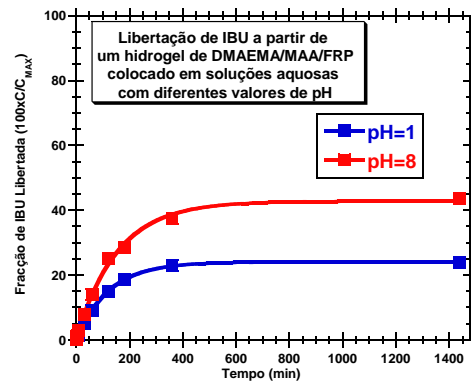
**Figura 114:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de um hidrogel HGS1 de NIPA (Tabela 6) colocado em soluções aquosas a T=25 °C e T=37 °C. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



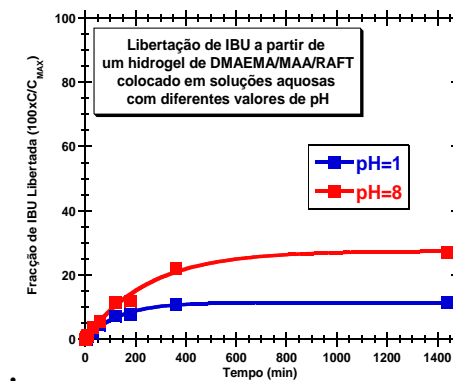
**Figura 115:** Comparação da fração de CAF libertada a partir de um hidrogel HGS6 de DMAEMA/MAA/FRP (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



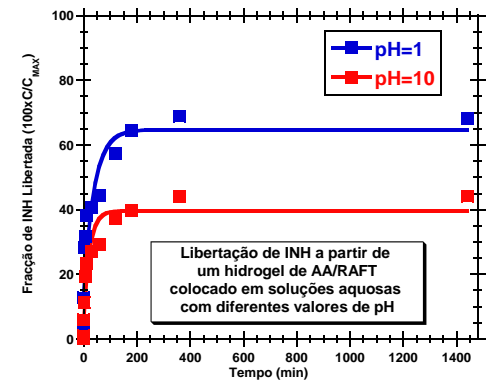
**Figura 116:** Comparação da fração de CAF libertada a partir de um hidrogel HGS7 de DMAEMA/MAA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



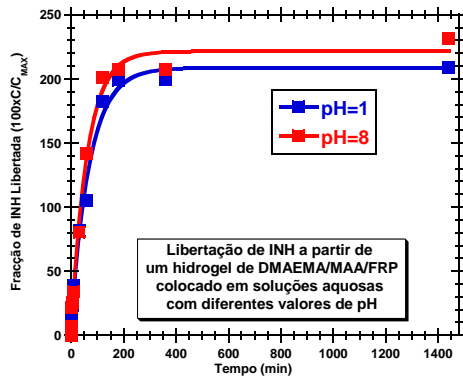
**Figura 117:** Comparação da fração de IBU libertada a partir de um hidrogel HGS6 de DMAEMA/MAA/FRP (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



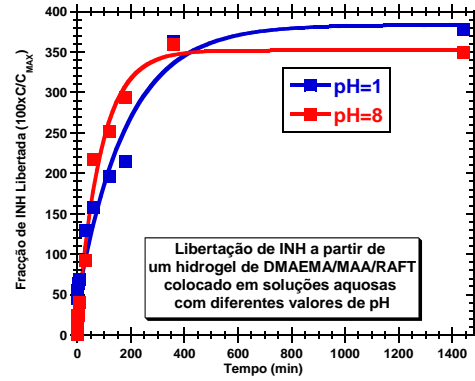
**Figura 118:** Comparação da fração de IBU libertada a partir de um hidrogel HGS7 de DMAEMA/MAA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



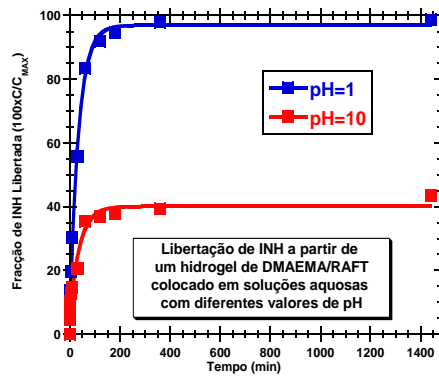
**Figura 119:** Comparação da fração de INH libertada a partir de um hidrogel HGS4 de AA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



**Figura 120:** Comparação da fração de INH libertada a partir de um hidrogel HGS6 de DMAEMA/MAA/FRP (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



**Figura 121:** Comparação da fração de INH libertada a partir de um hidrogel HGS7 de DMAEMA/MAA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=8. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.



**Figura 122:** Comparação da fração de INH libertada a partir de um hidrogel HGS5 de DMAEMA/RAFT (Tabela 6) colocado numa solução aquosa a pH=1 e pH=10. Mostra-se também o ajuste dos resultados experimentais ao modelo exponencial. Valores obtidos usando a metodologia incubação dos hidrogéis B.

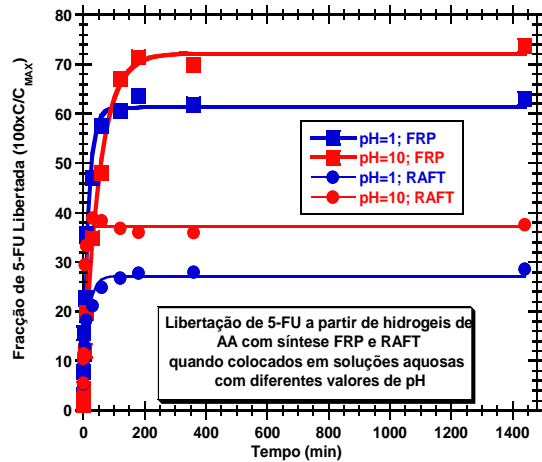
### 5.9.3. Comparação do Desempenho de Hidrogéis FRP-RAFT

Nas Figuras 123 a 128 faz-se a comparação das dinâmicas de libertação de diferentes fármacos a partir de hidrogéis FRP e dos seus análogos RAFT (quando disponíveis). A Figura 123 compara a libertação de 5-FU a pH 1/10 a partir de hidrogéis aniónicos (AA) com síntese FRP e RAFT. Foram estimadas maiores frações de libertação com hidrogéis FRP comparativamente aos materiais RAFT. Este facto deverá estar relacionado com a menor razão de inchamento medida para hidrogéis RAFT, uma consequência do menor comprimento de cadeia em geral resultante deste mecanismo de polimerização. Note-se no entanto que em ambos os casos (FRP/RAFT), foram observadas maiores taxas de libertação a pH=10 comparativamente ao observado a pH=1. Uma análise semelhante é

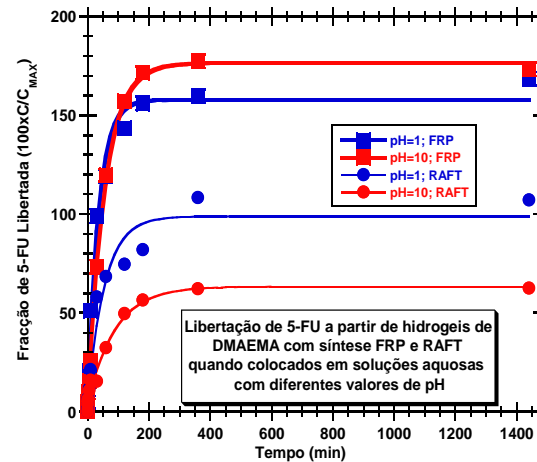
apresentada na Figura 124 para a liberação de 5-FU a partir de hidrogéis catiônicos FRP/RAFT. Valores mais baixos de liberação são também observados com hidrogéis RAFT e uma aparente inversão (sem explicação evidente) da seletividade com o pH foi também medida com estes materiais (maior liberação a pH=1).

A comparação das dinâmicas de liberação de 5-FU estimuladas por pH 1/8 a partir de hidrogéis anfotéricos DMAEMA/MAA com síntese FRP e RAFT é apresentada na Figura 125. Em ambos os casos foram medidas maiores taxas de liberação a pH=1, embora as quantidades libertadas e seletividade dos materiais sejam muito baixas para os dois tipos de hidrogéis. Resultados equivalentes para a liberação de cafeína são apresentados na Figura 126. Neste caso foi observada uma maior seletividade dos hidrogéis FRP (liberação de 17% do fármaco a pH=1 e 6% a pH=8) comparativamente aos materiais com síntese RAFT.

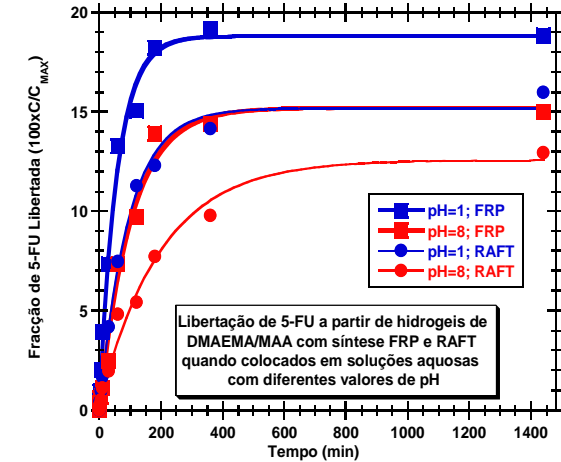
A liberação de IBU a partir de hidrogéis anfotéricos DMAEMA/MAA com síntese FRP e RAFT é ilustrada na Figura 127 tendo sido também analisada a variação de pH 1/8. Note-se o efeito da inversão do estímulo de liberação (maiores taxas agora em meio alcalino devido à maior solubilidade de IBU nestas condições). Os dois tipos de hidrogéis (FRP/RAFT) apresentam sensibilidade na liberação do fármaco em função das condições circundantes mas este processo é facilitado com os hidrogéis FRP (possivelmente devido à maior razão de inchamento destes materiais comparativamente aos hidrogéis RAFT, como anteriormente discutido). Note-se que uma análise semelhante considerando INH como fármaco, conforme ilustrado na Figura 128, conduz a resultados muito diferentes. Neste caso, apesar da dificuldade em obter uma boa referência de incubação (são estimadas taxas de liberação demasiado elevadas), parece clara uma menor sensibilidade na liberação do fármaco motivada pelo pH. Por outro lado, observa-se uma maior fração de liberação,  $\alpha_{MAX}(t)$ , com hidrogéis RAFT mas deve notar-se que a quantidade de fármaco libertada por unidade de massa de hidrogel,  $C_{HS}(t)$ , é maior com hidrogéis FRP (ver anexos Q e U). Com hidrogéis FRP,  $C_{HS}(t)$  atinge o valor limite de 0.066 mg/g, enquanto que com os análogos RAFT  $C_{HS}(t)$  é limitado por 0.035 mg/g. Estes dados indiciam que o próprio processo de incubação dos fármacos nos hidrogéis é afetado pelo menor inchamento em geral observado para os materiais RAFT (menores comprimentos de cadeia) relativamente aos produtos análogos com síntese FRP.



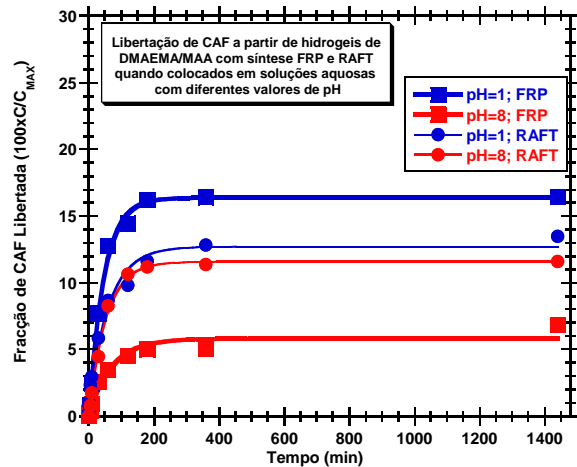
**Figura 123:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de hidrogéis de AA com síntese FRP (HGS2) e RAFT (HGS4) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=10.



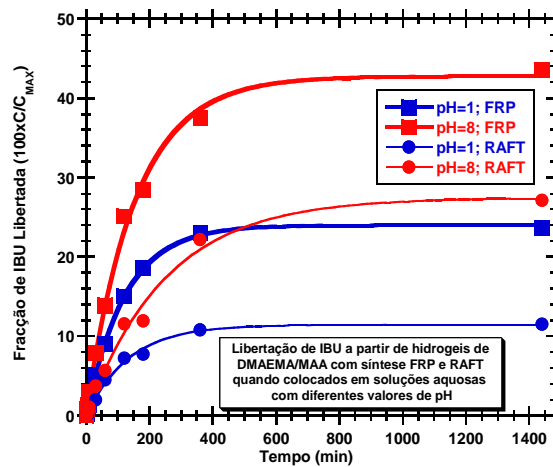
**Figura 124:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA com síntese FRP (HGS3) e RAFT (HGS5) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=10.



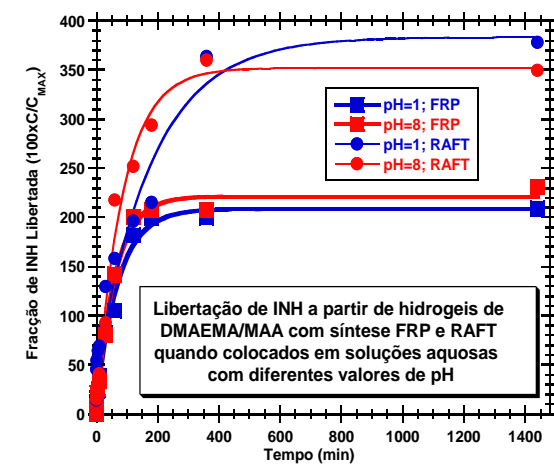
**Figura 125:** Comparação da fração de 5-FU libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA/MAA com síntese FRP (HGS6) e RAFT (HGS7) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=8.



**Figura 126:** Comparação da fração de CAF libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA/MAA com síntese FRP (HGS6) e RAFT (HGS7) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=8.



**Figura 127:** Comparação da fração de IBU libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA/MAA com síntese FRP (HGS6) e RAFT (HGS7) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=8.



**Figura 128:** Comparação da fração de INH libertada a partir de hidrogéis de DMAEMA/MAA com síntese FRP (HGS6) e RAFT (HGS7) quando colocados em soluções aquosas a pH=1 e pH=8.

## Capítulo 6-Conclusões e Trabalhos Futuros

Neste trabalho foram sintetizados hidrogéis inteligentes, sensíveis ao pH e temperatura, tendo sido também realizados testes de libertação de quatro fármacos diferentes a partir dos materiais preparados. Com o objetivo de estudar o efeito das condições de síntese sobre as propriedades e desempenho dos hidrogéis, foi feita a sua produção em suspensão inversa (a morfologia das partículas obtidas foi analisada por microscopia eletrônica de varrimento – SEM) e em solução. Foram considerados dois mecanismos diferentes de reação: polimerização radicalar clássica e polimerização por transferência de cadeia reversível por adição-fragmentação (RAFT). Usando diferentes combinações nos monómeros de partida, foram sintetizados hidrogéis polielectrólitos de diferentes tipos, nomeadamente aniônicos, catiónicos e anfotéricos e também hidrogéis não-iônicos. Foi observada a efetiva sensibilidade dos materiais obtidos à variação das condições envolventes, nomeadamente variações no pH de soluções aquosas, temperatura, força iónica ou presença de solvente desidratante. Demonstrou-se assim a possibilidade de fazer transitar os hidrogéis entre estados de inchamento/colapso em consequência da alteração de parâmetros pré-definidos. As propriedades únicas destes materiais foram exploradas na libertação estimulada de fármacos, nomeadamente de 5-fluoruracilo (tratamento do cancro), ibuprofeno (anti-inflamatório), isoniazida (tratamento da tuberculose) e cafeína (atuador do sistema nervoso central). Neste contexto, foram consideradas diferentes combinações hidrogel/estímulo/fármaco tendo em vista a procura de condições que possam potenciar os processos de libertação. Fez-se também uma descrição mecanicista simples da dinâmica de libertação dos fármacos, considerando para esse efeito modelos matemáticos alternativos (modelo exponencial e lei de potência).

Tendo em vista a produção de hidrogéis de diferentes famílias e sensíveis a diferentes estímulos (aniônicos, catiónicos, anfotéricos e também hidrogéis não-iônicos) foram usados diferentes monómeros e foi feita a otimização das respetivas condições de síntese (temperatura, concentrações, catalisadores, neutralização, etc, conforme detalhado nas Tabelas 2 e 3). O efeito das condições de síntese na morfologia dos hidrogéis foi mostrado de forma evidente considerando polimerização em suspensão inversa e polimerização em solução. No primeiro caso foram obtidas micropartículas de hidrogel (observadas por SEM) enquanto com polimerização em solução foi gerada uma

massa contínua desses materiais. A utilização destas duas alternativas de síntese visou também investigar o efeito da morfologia das redes de polímero no processo de libertação dos fármacos. Por outro lado, nos anos mais recentes, foi iniciada uma linha de investigação na produção de materiais avançados avaliando o uso de polimerizações radiculares controladas (CRP) em substituição de FRP. Desta forma, poderão eventualmente ser obtidos materiais com propriedades melhoradas através de mecanismos de controlo da arquitetura molecular das redes formadas. Esta possibilidade foi também avaliada neste trabalho, considerando a síntese de hidrogéis através da técnica de transferência de cadeia reversível por adição-fragmentação (RAFT), como também detalhado nas Tabelas 2 e 3. Para esse efeito, foram usados três agentes RAFT diferentes (DDMAT, CPA e CDT) e feita a adaptação das condições de síntese (ex. solvente orgânico/aquoso) dada a profunda alteração da cinética de polimerização quando se faz a substituição do mecanismo FRP por RAFT.

Foi estudado e quantificado experimentalmente o comportamento dos diferentes tipos de redes de polímero sintetizados quando sujeitos a variações nas suas condições envolventes. Em concreto, foi medida a variação da razão de inchamento (SR) dos hidrogéis provocada por variações no pH, temperatura ou força iónica das soluções aquosas onde se encontram colocados. Foi também investigado o efeito da presença de um solvente desidratante sobre o inchamento/contração desses materiais. Esses estudos incluíram medições de equilíbrio e também da dinâmica de inchamento e contração das redes de polímero. Foi possível observar de forma inequívoca o impacto da composição dos hidrogéis sobre a possibilidade de serem estimulados por parâmetros específicos. Por exemplo, foi mostrado que as redes de polielectrólitos sintetizadas podem ser estimuladas de forma diferente através de variações no pH (aniónicos com transição compactado/inchado a pH ácido/alcalino e catiónicos de forma inversa). Foram também obtidos em laboratório hidrogéis que podem ser estimulados através da variação da temperatura do meio aquoso circundante. Para esse efeito usou-se NIPA como monómero de base. Foi também confirmada experimentalmente a enorme redução da razão de inchamento destes materiais avançados quando a temperatura varia na gama de 20 a 37 °C, o que os torna potencialmente úteis em aplicações biomédicas/biológicas. A combinação de diferentes tipos de monómeros permitiu obter hidrogéis com propriedades mistas (ex. hidrogéis anfotéricos). Por outro lado, foi comparado o desempenho de inchamento/contração de produtos FRP e dos seus análogos RAFT. Em geral, com condições envolventes equivalentes, os hidrogéis RAFT apresentaram

menores valores de SR comparativamente às redes de polímero FRP. Este facto é consequência dos baixos comprimentos de cadeia (comparativamente com FRP) associados aos polímeros resultantes da aplicação direta do mecanismo RAFT. Todos estes estudos de caracterização do inchamento/contração dos hidrogéis sintetizados visaram também a identificação dos sistemas com maior grau de estimulação em termos da sua razão de inchamento. Fez-se desta forma a seleção dos materiais que seriam alvo dos estudos de libertação de fármacos por garantirem potencialmente um desempenho superior a este nível.

Os hidrogéis sintetizados (e selecionados para os estudos de libertação) foram incubados com 5-fluoruracilo, cafeína, isoniazida ou ibuprofeno visando a posterior quantificação da dinâmica de libertação desses fármacos a partir de diferentes tipos de redes de polímero, quando sujeitas também a estímulos distintos. Pretendeu-se assim avaliar o efeito da combinação hidrogel/estímulo/fármaco nos perfis de libertação desses fármacos. Foram considerados dois processos diferentes de incubação (carregamento) dos fármacos nos hidrogéis. Num dos casos (A) garantiu-se que todo o fármaco usado se associava de alguma forma ao hidrogel, embora grande parte pudesse ficar na superfície do material. No segundo processo (B), procurou-se que só o fármaco que difunde para o interior do hidrogel se considerasse incubado. No entanto, este último caso, gera dificuldades na quantificação do fármaco efetivamente carregado. A análise por espectroscopia de UV do processo de incubação B permitiu identificar a importância da combinação fármaco/hidrogel sobre a quantidade de fármaco que é possível transferir para as redes de polímero. Este mecanismo de transferência foi avaliado usando duas formas diferentes. Considerando a distribuição homogénea dos fármacos entre as duas fases (fase aquosa e hidrogel) foi medida a razão de inchamento dos hidrogéis após o processo de incubação e estimada a quantidade de princípio ativo supostamente transferida para o polímero. Em alternativa, foi medida por UV a concentração de fármaco na solução aquosa remanescente do processo de incubação e, por diferença, estimada a quantidade transferida para o hidrogel. Os resultados obtidos pelos dois processos apresentaram em alguns casos discrepâncias assinaláveis. Estas diferenças são em parte explicadas pela existência de interações preferenciais (positivas ou negativas) entre o polímero e os fármacos (ex. devido a efeitos eletrostáticos) que originam a incubação de quantidades (superiores ou inferiores) ao que seria de esperar com uma distribuição homogénea. Deve também assinalar-se que a solubilidade dos fármacos a usar em solução aquosa é um outro fator crítico na análise dos processos de

incubação e libertação. Por exemplo, o ibuprofeno puro apresenta uma solubilidade extremamente baixa em água (embora a sua solubilidade aumente razoavelmente em meio alcalino). Esta dificuldade foi ultrapassada neste trabalho através da geração de um sal de ibuprofeno (sal de sódio que é significativamente mais solúvel em água), a partir do fármaco puro, por reação com hidróxido de sódio.

Foram realizados testes laboratoriais onde se mediu a dinâmica de libertação de 5-fluoruracilo, cafeína, isoniazida e ibuprofeno estimulada por variações nas condições envolventes dos hidrogéis. Entre outros, foram realizados testes a pH ácido / pH alcalino (por analogia com a variação de pH esperada entre estômago/intestino) ou impondo variação de temperatura de 25 para 37 °C (uma gama de temperatura compatível com aplicações biológicas). A dinâmica de libertação dos fármacos nas diferentes condições consideradas foi medida por espectroscopia UV tendo sido usados dois métodos alternativos para esse efeito: *modo aberto* em GPC com monitorização UV e *modo fechado* num espectrómetro UV-VIS.

Foram identificadas combinações específicas em que a libertação dos fármacos é enormemente potenciada pelos estímulos considerados. No entanto, em muitos casos, a libertação revelou insensibilidade à alteração das condições envolventes dos hidrogéis. Com os hidrogéis sintetizados em suspensão inversa, assinala-se a boa seletividade na libertação de cafeína a partir de um hidrogel NIPA/MAA quando colocado 37 °C/pH=1.2 (hidrogel colapsado) relativamente a 22 °C/pH=7.5 (hidrogel inchado). Uma enorme seletividade foi também observada na libertação de cafeína a partir de um hidrogel NIPA. Neste caso foi medida uma muito maior taxa de libertação a T=22 °C comparativamente a T=37 °C. Note-se no entanto que, devido a dificuldades experimentais associadas ao manuseamento dos hidrogéis sob a forma de micropartículas, os valores experimentais obtidos para as dinâmicas de libertação destes sistemas apresentam uma elevada dispersão o que dificulta a obtenção de conclusões definitivas sobre esta matéria.

Com hidrogéis sintetizados em solução, foi possível obter medições experimentais das dinâmicas de libertação com baixa dispersão e apresentando um bom ajuste ao modelo exponencial. Assinala-se a libertação de 5-FU a partir de um hidrogel NIPA/FRP que é enormemente potenciada a 37 °C comparativamente a 25 °C. Note-se que a inversão da seletividade de libertação de fármacos, em função da temperatura, a partir de hidrogéis NIPA foi também anteriormente reportada na literatura [50,51,71,72]. Uma razoável seletividade na libertação de 5-FU foi também medida com um hidrogel catiónico

RAFT (baseado em DMAEMA), tendo sido observada a potenciação deste processo em meio ácido (pH=1) comparativamente a meio alcalino (pH=10).

No estudo da libertação de ibuprofeno (na sua forma de sal de sódio), foi observado que este processo é favorecido em meio alcalino (no caso pH=8) relativamente a meio ácido (foi usado pH=1), o que é compatível com a maior solubilidade deste fármaco a valores elevados de pH. Uma razoável seletividade na libertação deste princípio ativo foi observada com os dois hidrogéis considerados (anfotéricos DMAEMA/MAA com síntese RAFT e FRP) embora as frações libertadas sejam aparentemente baixas em ambos os casos (no máximo cerca de 45% a pH=8 com hidrogel FRP).

A maior seletividade na libertação de isoniazida foi observada com um hidrogel catiónico DMAEMA/RAFT com cerca de 100% do fármaco transferido para a solução aquosa a pH=1 e apenas 40% a pH=10. Uma menor seletividade foi medida com um hidrogel aniónico AA/RAFT com 65% de libertação a pH=1 e também cerca de 40% a pH=10.

Neste estudo foi também feita a comparação das dinâmicas de libertação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados por FRP e por RAFT. Essa análise mostrou diferenças assinaláveis na transferência de fármacos para as soluções aquosas quando se consideram materiais com sínteses por mecanismos distintos. Em geral, foram observadas maiores taxas de libertação quando se consideram materiais FRP. Estas diferenças poderão estar relacionadas com as arquiteturas moleculares associadas aos dois tipos de materiais, nomeadamente o maior comprimento da cadeia primária esperada com hidrogéis FRP comparativamente a RAFT. Em consequência, maiores taxas de inchamento são em geral observadas para hidrogéis FRP, o que, em princípio, facilita os processos de incubação e posterior libertação de fármacos.

O aprofundamento dos estudos comparativos no âmbito desempenho de hidrogéis FRP e hidrogéis RAFT na libertação controlada de fármacos constitui um tema importante a considerar em futuros trabalhos nesta linha de investigação. Em especial, seria importante o desenvolvimento de condições de síntese que permitam obter hidrogéis RAFT com elevados comprimentos de cadeia (gerando materiais com maiores razões de inchamento) e mantendo uma arquitetura molecular controlada (por comparação com hidrogéis FRP). Seriam assim dados novos contributos no desenvolvimento de materiais com propriedades por medida e que apresentam aplicações importantes em biologia e biomedicina. Nesses novos estudos, seria também útil a inclusão de síntese por suspensão inversa tendo em vista a obtenção de micropartículas de hidrogéis com

arquitetura molecular controlada. O aperfeiçoamento dos testes aqui apresentados com este tipo de micropartículas, incluindo a quantificação rigorosa dos processos de incubação e libertação de fármacos, deverá permitir a avaliação das vantagens decorrentes da morfologia destes produtos nas suas aplicações biomédicas.

## 7. Referências Bibliográficas

- [1] Vinogradov, S., Bronich, T., & Kabanov, A. (2002). Nanosized cationic hydrogels for drug delivery: preparation, properties and interactions with cells. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 135-147.
- [2] Razzak, M., Darwis, D., & Sukirno, Z. (2001). Irradiation of polyvinyl alcohol and polyvinyl pyrrolidone blended hydrogel for wound dressing. *Radiation Physics and Chemistry*, 62, 107-113.
- [3] Figueiredo, A. M. (2011). *Preparação e caracterização de micropartículas de polissacáridos para libertação controlada de fármacos anticancerígenos no cólon*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Portugal.
- [4] Ferro, C. I. L. (2005). *Detecção de M. tuberculosis resistente à isoniazida por PCR-TR*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro, Portugal.
- [5] Galaev, I., & Mattiasson, B. (2008). *Smart polymers: applications in biotechnology and biomedicine*. CRC Press, 2ª Ed.
- [6] Gonçalves, M., Pinto, V., Dias, R., & Costa, M. (2013). Polymer reaction engineering studies on smart hydrogels formation. *Journal of Nanostructured Polymers and Nanocomposites*, 9/2, 40-45.
- [7] Plunkett, K. N., Berkowski, K. L., & Moore, J. S. (2005). Chymotrypsin responsive hydrogel: application of a disulfide exchange protocol for the preparation of methacrylamide containing peptides. *Biomacromolecules*, 6, 632-637.
- [8] Bhattarai, N., Ramay, H. R., Gunn, J., Matsen, F. A., & Zhang, M. (2005). PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release. *Journal of controlled release*, 103, 609-624.
- [9] de las Heras Alarcón, C., Pennadam, S., & Alexander, C. (2005). Stimuli responsive polymers for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 34, 276-285.
- [10] Schilli, C.M., Zhang, M., Rizzardo, E., Thang, S.H., Chong, Y.K., Edwards, K., Karlsson, G., & Muller, A.H.E. (2004). A new double-responsive block copolymer synthesized via raft polymerization: poly(n-isopropylacrylamide)-block-poly(acrylic acid). *Macromolecules*, 37, 7861-7866.

- [11] Zhang, X.-Z., Yang, Y.-Y., Chuang, Y.-S., & Ma, K.-X. (2001). Preparation and characterization of fast response macroporous poly( n-isopropylacrylamide) hydrogels. *Langmuir*, 17, 6094-6099.
- [12] Hoffman, A. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 43, 3-12.
- [13] Ng, L.-T., Arsenin, A., & Nguyen, D. (2003). Proceedings of the radiation technology asia conference. *Yokohama*, Japan, 669.
- [14] Sem, M. & Guven, O. (1999). Radiation synthesis of poly(n-vinyl 2-pyrrolidone/itaconic acid) hydrogels and their controlled release behaviours. *Radiation Physics and Chemistry*, 55, 113-120.
- [15] Sutani, K., Kaetsu, I., Uchida, K., & Matsubara, Y. (2002). Stimulus responsive drug release from polymer gel. Controlled release of ionic drug from polyampholyte gel. *Radiation Physics and Chemistry*, 64, 331-336.
- [16] Dusek, K., & Patterson, D. (1968). Transition in swollen polymer networks induced by intramolecular condensation. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry Edition*. 6, 1209-1216.
- [17] am Ende, M.T., Hariharan, D., & Peppas, N.A. (1995). Factors influencing drug and protein transport and release from ionic hydrogels. *Reactive Polymers*, 25, 127-137.
- [18] Lee, W.F., & Chiu, R.J. (2002). Investigation of charge effects on drug release behavior for ionic thermosensitive hydrogels. *Materials Science and Engineering C*, 20, 161-166.
- [19] Bajpai, A., Shukla, S., Saini, R., & Tiwari, A. (2010). *Stimuli responsive drug delivery systems: from introduction to application*. Smithers Rapra Technology.
- [20] Sadahira, C. M. (2007). *Síntese, caracterização e avaliação do perfil de libertação in vitro de hidrogéis do álcool polivinílico pH sensitivos processados por métodos físico-químicos*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- [21] Salamone, J.C., Rice, W.C. & Mark, H. (1987). *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, 2ªEd, New York.
- [22] Gupta, K.C. & Ravi Kumar, M.N.V. (2000). Semi-interpenetrating polymer network beads of crosslinked chitosan-glycine for controlled release of chlorphenamine maleate. *Journal of Applied Polymer Science*, 76, 672-683.

- [23] Chen, L., Tian, Z., & Du, Y. (2004). Synthesis and pH sensitivity of carboxymethyl chitosan-based polyampholyte hydrogels for protein carrier matrices. *Biomaterials*, 25, 3725-3732.
- [24] English, A.E., Tanaka, T., & Edelman, E.R. (1998). Polymer and solution ion shielding in polyanphoteric hydrogels. *Polymer*, 39, 5893-5897.
- [25] Ali, M.M., Perzanowski, H.P., & Ali, S.A. (2000). Polymerization of functionalized diallyl quaternary ammonium salt to poly(ampholyte-electrolyte). *Polymer*, 41, 5591-5600.
- [26] Ostroha, J., Pong, M., Lowman, A., & Dan, N. (2004). Controlling the collapse/swelling transition in charged hydrogels. *Biomaterials*, 25, 4345-4353.
- [27] Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M., Dave, A.M., Kumbar, S.G., & Rudzinski, W.E. (2002). *Drug development and Industrial Pharmacy*, 28, 957.
- [28] Prista, L., Alves, A., Morgado, R., & Lobo, J. (2008). *Tecnologia Farmacêutica*. 7ª Ed. I Vol. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa.
- [29] Braunwald, E., Longo, D., Dan, L., et al. (2009). *Harrison-Medicina Interna*. 17ªEd. Lange/ McGraw-Hill.
- [30] Lee, W.-F., & Yen, S.-H. (2000). Thermoreversible hydrogels. XII. Effect of the polymerization conditions on the swelling behavior of N-isopropylacrylamide gel. *Journal of Applied Science*, 78, 1604-1611.
- [31] Coimbra, P. M. A. (2010). *Libertação controlada de fármacos com base em polímeros de origem natural*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Portugal.
- [32] Marques, S. C. C. M. (2011). *Libertação de ibuprofeno de hidrogéis de PVA contendo porfirinas*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Portugal.
- [33] Almeida, H. E. P. P. J. (2011). *Preparação e caraterização de dispersões sólidas e micropartículas lipídicas contendo ibuprofeno*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal.
- [34] Rosa, H. J. (2006). *Efeitos da rifampicina na farmacocinética e hepatotoxicidade da isoniazida*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêutica, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.
- [35] Dias, R., & Costa, M. (2007). Prediction of mean square radius of gyration of tree-like polymers by a general kinetic approach. *Polymer*, 48, 1785-1801.

- [36] Dias, R., & Costa, M. (2006). A general kinetic method to predict sequence length distributions for non-linear irreversible multicomponent polymerizations. *Polymer*, *47*, 6895-6913.
- [37] Costa, M., & Dias, R. (2005). Semibatch operation and primary cyclization effects in homogeneous free-radical crosslinking copolymerizations. *Polymer*, *46*, 6163-6173.
- [38] Costa, M., & Dias, R. (2010). Calculation of CLD using population balance equations of generating functions: linear and non-linear ideal controlled radical polymerization. *Macromolecular Theory and Simulations*, *19*, 323-341.
- [39] Costa, M., & Dias, R. (2005). Transient behavior and gelation of free radical polymerizations in continuous stirred tank reactors. *Macromolecular Theory and Simulations*, *14*, 243-255.
- [40] Dias, R., & Costa, M. (2003). Prediction of sol fraction and average molecular weights after gelation for non-linear free radical polymerizations using a kinetic approach. *Macromolecular Theory and Simulations*, *12*, 560-572.
- [41] Dias, R., & Costa, M. (2006). Kinetic modeling of non-linear polymerization. *Macromol. Symp.*, *243*, 72-82.
- [42] Costa, M., & Dias, R. (2007). Branching and crosslinking in coordination terpolymerizations. *Macromolecular Reaction Engineering*, *1*, 440-467.
- [43] Costa, M., & Dias, R. (2003). A new look at kinetic modeling of nonlinear free radical polymerizations with terminal branching and chain transfer to polymer. *Macromolecules*, *36*, 8853-8863.
- [44] Barreiro, M.F., Dias, R., & Costa, M. (1994). Experimental determination of sequence length distribution of hard segments in polyester- polyurethanes. *Macromolecules*, *27*, 7650-7653.
- [45] Costa, M., & Dias, R. (1994). A general kinetic analysis of non-linear irreversible copolymerizations. *Chemical Engineering Science*, *49*, 491-516.
- [46] Dias, R., & Costa, R. (2006). An Improved general kinetic analysis of non-linear irreversible polymerisations. *Chemical Engineering Science*, *60*, 423-446.
- [47] Machado, F., Lima, E., & Pinto, J. C. (2007). Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, *17*, 166-179.
- [48] Lee, W.-F., & Yeh, P.-L. (1998). Thermoreversible hydrogels.IV. Effect of some factors on the swelling behavior of N-tetrahydrofurfurylacrylamide. *Journal of Applied Polymer Science*, *68*, 1597-1603.

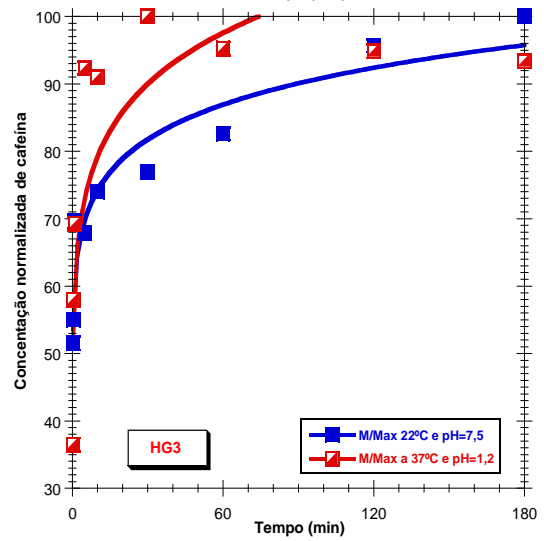
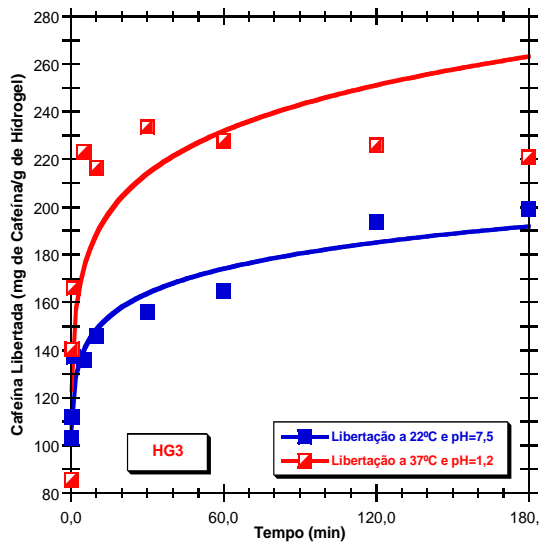
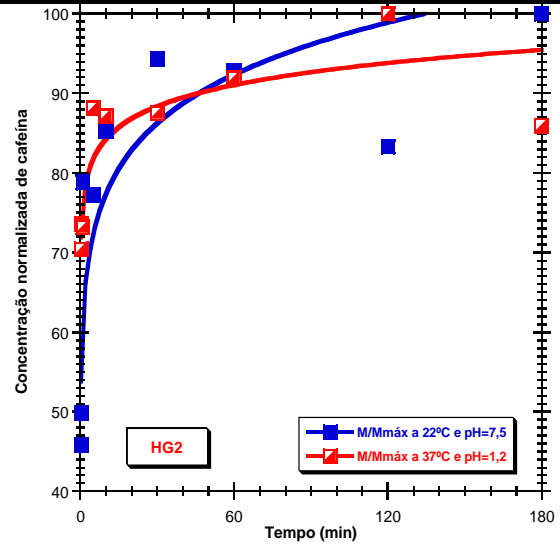
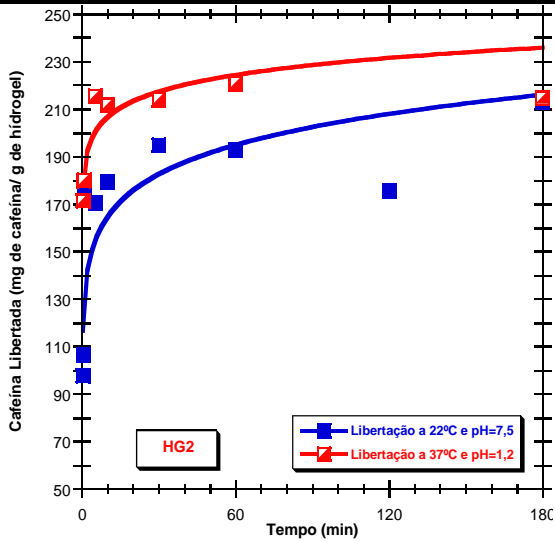
- [49] Lowe, T., Virtanen, J., & Tenhu, H. (1999). Interactions of drugs and spin probes with hydrophobically modified polyelectrolyte hydrogels based on N-isopropylacrylamide. *Polymer*, *40*, 2595-2603.
- [50] Zhang, X.-Z., Zhuo, R.-X., Cui, J.-Z., & Zhang, J.-T. (2002). A novel thermo-responsive drug delivery system with positive controlled release. *International Journal of Pharmaceutics*, *235*, 43-50.
- [51] Zhang, J.-T., Huang, S.-W., Cheng, S.-X., & Zhuo, R.-X. (2004). Preparation and properties of poly(N-isopropylacrylamide)/ poly(N-isopropylacrylamide) interpenetrating polymer networks for drug delivery. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, *42*, 1249-1254.
- [52] Xu, Y., Li, G., & Haraguchi, K. (2010). Gel formation and molecular characteristics of poly(N-isopropylacrylamide) prepared by free-radical redox polymerization in aqueous solution. *Macromolecular Chemistry and Physics*, *211*, 977-987.
- [53] Lee, W.-F., & Hsu, C.-H. (1998). Thermoreversible hydrogels: 3. Synthesis and swelling behavior of the (N-isopropylacrylamide-co-trimethylacrylamidopropyl ammonium iodide) copolymeric hydrogels. *Polymer*, *39*, 5393-5403.
- [54] Orakdogan, N. (2011). pH-responsive swelling behavior, elasticity and molecular characteristics of poly (N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) gels at various initial monomer concentrations. *Polymer Bulletin*, *67*, 1347-1366.
- [55] Yin, Y., Yang, Y., & Xu, H. (2002). Swelling Behavior of hidrogels for colon-site drug delivery. *Journal of Applied Polymer Science*, *83*, 2835-2842.
- [56] Gu, J., Xia, F., Wu, Y., Qu, X., Yang, Z., & Jiang, L. (2007). Programmable delivery of hydrophilic drug using dually responsive hydrogel cages. *Journal of Controlled Release*, *117*, 396-402.
- [57] Lee, W.-F., & Yuan, W.-Y. (2001). Thermoreversible hydrogels XI: effect of salt on the swelling properties of the (N-isopropylacrylamide-co-sodium 2-acrylamido-2-methylpropyl sulfonate) copolymeric hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*, *79*, 1675-1684.
- [58] Don, T.-M., Huang, M.-L., Chiu, A.-C., Kuo, K.-H., Chiu, W.-Y., & Chiu, L.-H. (2008). Preparation of thermo-responsive acrylic hydrogels useful for the application in transdermal drug delivery systems. *Materials Chemistry and Physics*, *107*, 266-273.

- [59] Gonçalves, M., Pinto, V., Costa, R., Dias, R., Hernandez-Ortiz, J., & Costa, M. (2013). Stimuli-responsive hidrogels synthesis using free radical and RAFT polymerization. (Aceite para publicação em *Macromolecular Symposia*).
- [60] Gonçalves, M., Costa, R., Pinto, V., Dias, R., Costa, M., & Hernández-Ortiz, J. (2013). Kinetic studies on RAFT inverse-suspension smart hydrogels formation using a tetra detector array. *Polymer Reaction Engineering*.
- [61] Gonçalves, M., Pinto, V., Dias, R., & Costa, M. (2011). Modeling studies on the synthesis of superabsorbent hydrogels using population balance equation. *Macromolecular Symposia*, 306-307, 107-125.
- [62] Gonçalves, M., Costa, M., Dias, R., & Pinto, V. (2011). Kinetic modeling of the suspension copolymerization of styrene/divinylbenzene with gel formulation. *Macromolecular Symposia*, 302, 179-190.
- [63] Gonçalves, M., Costa, M., Dias, R., & Pinto, V. (2010). FTIR-ATR Monitoring and SEC/RI/MALLS characterization of ATRP synthesized hyperbranched polyacrylates. *Macromolecular Symposia*, 296, 210-228.
- [64] Gonçalves, M., Trigo, I., Dias, R., & Costa, M. (2010). Kinetic modeling of the molecular architecture of crosslinker copolymers synthesized by controlled radical polymerization techniques. *Macromolecular Symposia*, 291-292, 239-250.
- [65] Gonçalves, M., Dias, R., & Costa, M. (2010). Prediction and experimental characterization of the molecular architecture of FRP and ATRP synthesized polyacrylate networks. *Macromolecular Symposia*, 289, 1-17.
- [66] Gonçalves, M., Costa, M., Dias, R., & Trigo, I. (2008). Molecular architecture of non-linear polymers: kinetic modeling and experimental characterization of the system methyl methacrylate+ethylene glycol dimethacrylate. *Macromolecular Symposia*, 271, 107-119.
- [67] Gonçalves, M., Dias, R., & Costa, M. (2007). Time programmed feed of semi-batch reactors with non-linear radical copolymerizations: an experimental study of the system styrene+divinylbenzene using SEC/MALLS. *Macromolecular Symposia*, 259, 124-134.
- [68] Gonçalves, M., Dias, R., & Costa, M. (2010). Kinetic modeling of hyperbranched polymer synthesis through atom-transfer and nitroxide-mediated radical polymerization of vinyl/divinyl monomers. *Chemical Engineering Technology*, 33, 1797-1813.

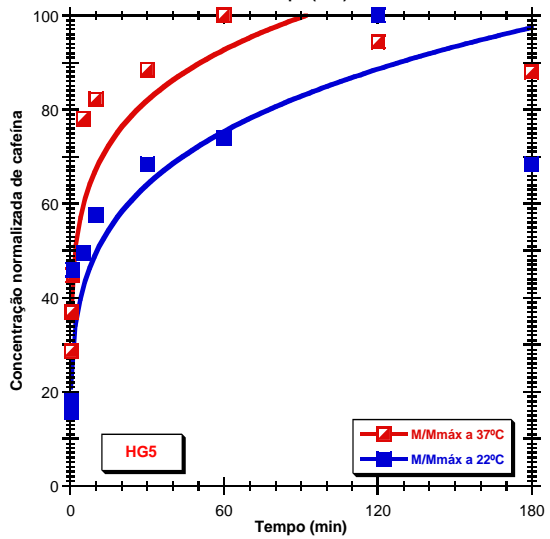
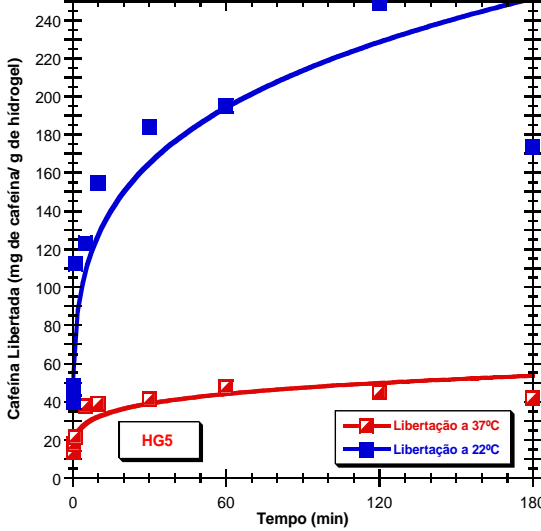
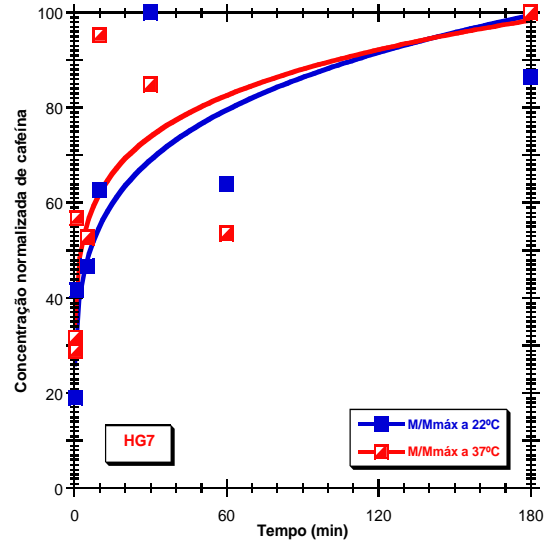
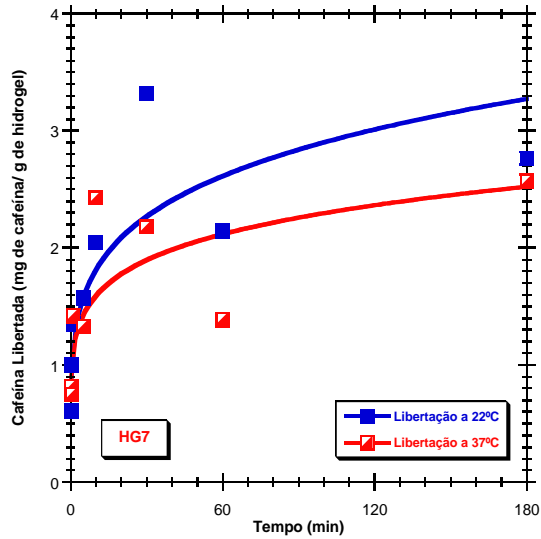
- [69] Gonçalves, M., Pinto, V., Dias, R., Costa, M., & Giudici, A. (2013) Gel formulation in aqueous suspension nitroxide-mediated radical co-polymerization of styrene/ divinylbenzene. *Macromolecular Reaction Engineering*, 7, 155-175.
- [70] Mendes, J. S. M. P. (2011). *Síntese de hidrogéis de base acrílica recorrendo a técnicas de polimerização radicalar viva. Potencial aplicação como fármacos poliméricos*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Portugal.
- [71] Zhang, J.-T., Cheng, S.-X., Huang, S.-W., & Zhuo, R.-W. (2003). Temperature-sensitive poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels with macroporous structure and fast response rate. *Macromolecula Rapid Communications*, 24, 447-451.
- [72] Zhang, X.-Z., Wu, D.-Q., & Chu, C.-C. (2004). Synthesis, characterization and controlled drug release of thermosensitive IPN–PNIPAAm hydrogels. *Biomaterials*, 25, 3793-3805.

**Anexos**

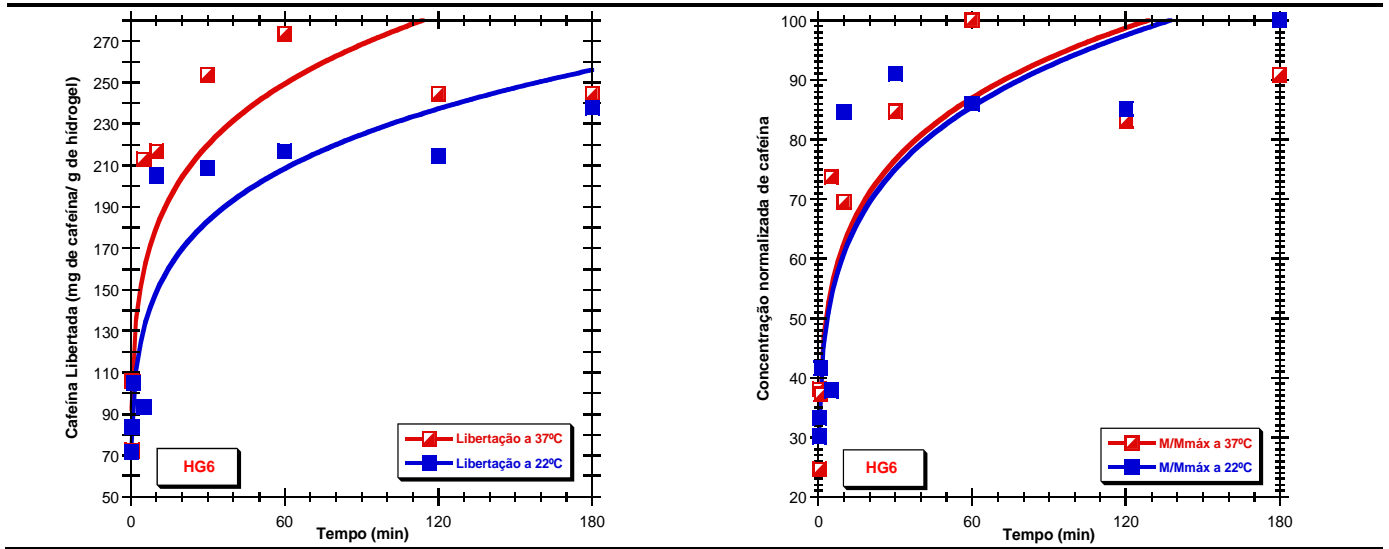
**Anexo A:** Liberação de Cafeína estimulada pela temperatura e pH (hidrogel colocado em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$ ). Nas figuras são apresentados os valores medidos para a quantidade de fármaco libertada (expressa em mg/g hidrogel) e a respetiva concentração normalizada, usando como referência o máximo observado. Faz-se também a comparação dos resultados obtidos com os métodos de incubação A e B. Os dados experimentais da dinâmica de libertação foram obtidos através de espectroscopia UV. Ajuste dos resultados experimentais ao modelo de potência. São aqui apresentados os testes realizados com os hidrogéis HG2 e HG3.



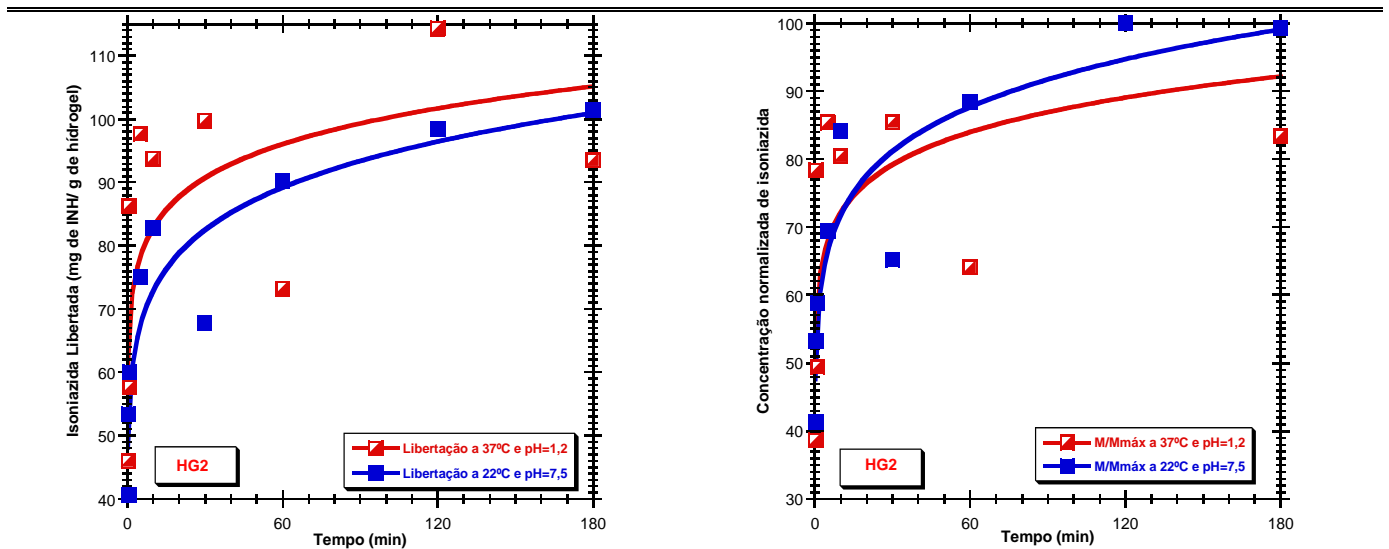
**Anexo B:** Liberação de Cafeína estimulada pela temperatura (hidrogel colocado em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Nas figuras são apresentados os valores medidos para a quantidade de fármaco libertada (expressa em mg/g hidrogel) e a respetiva concentração normalizada, usando como referência o máximo observado. Os dados experimentais da dinâmica de libertação foram obtidos através de espectroscopia UV. Ajuste dos resultados experimentais ao modelo de potência. São aqui apresentados os testes realizados com os hidrogéis HG5 e HG7.



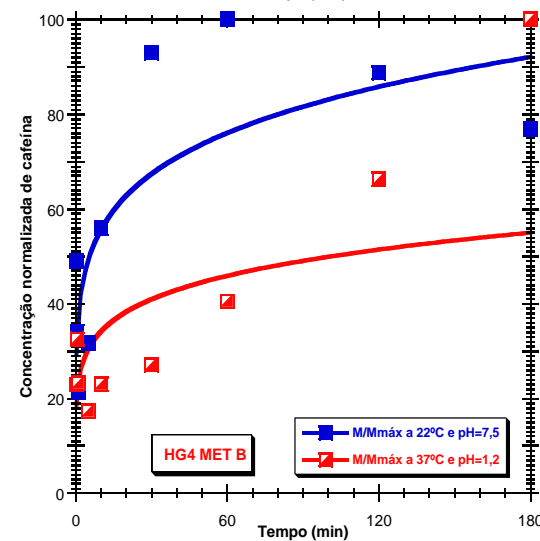
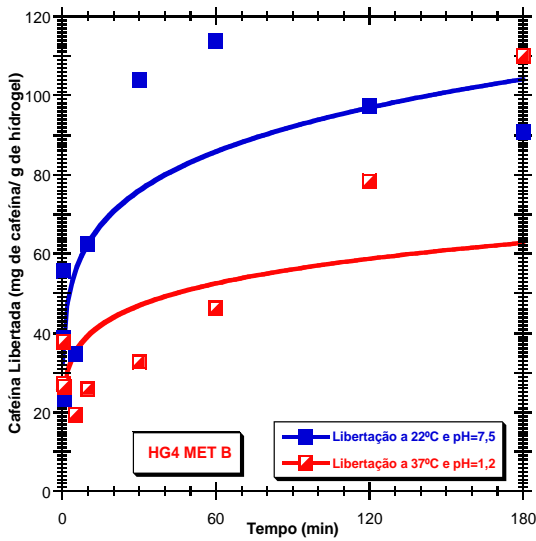
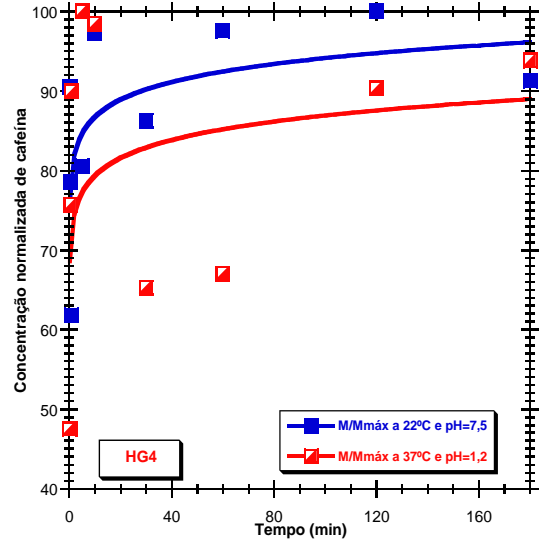
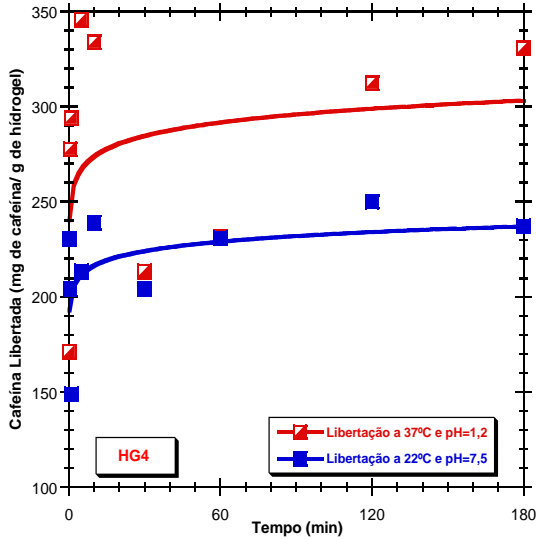
**Anexo C:** Liberação de Cafeína estimulada pela temperatura (hidrogel colocado em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Nas figuras são apresentados os valores medidos para a quantidade de fármaco libertada (expressa em mg/g hidrogel) e a respectiva concentração normalizada, usando como referência o máximo observado. Os dados experimentais da dinâmica de liberação foram obtidos através de espectroscopia UV. Ajuste dos resultados experimentais ao modelo de potência. É aqui apresentado o teste realizado com o hidrogel HG6.



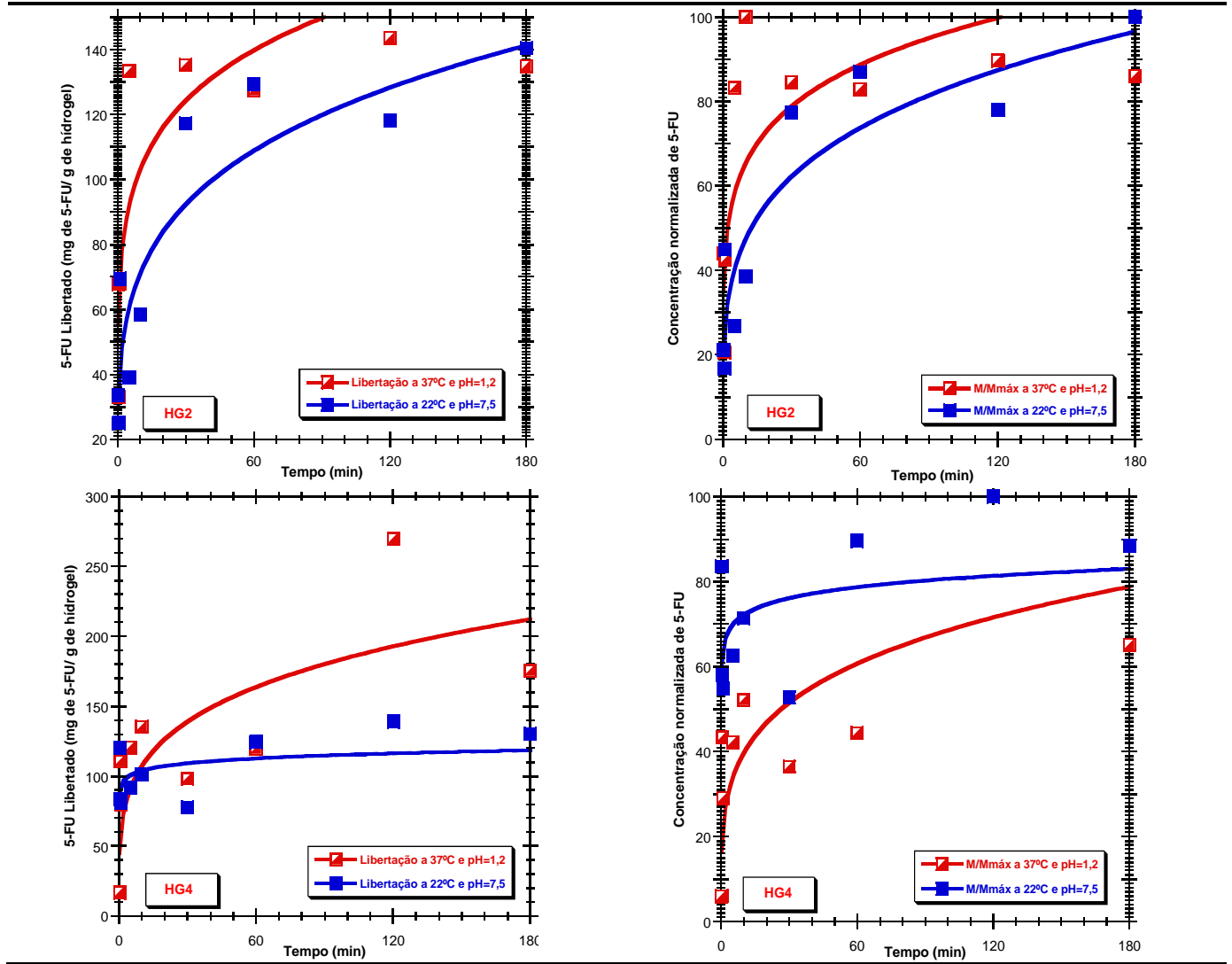
**Anexo D:** Liberação de INH estimulada pela temperatura e pH (hidrogel colocado em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$ ). Nas figuras são apresentados os valores medidos para a quantidade de fármaco libertada (expressa em mg/ g hidrogel) e a respectiva concentração normalizada, usando como referência o máximo observado. Os dados experimentais da dinâmica de liberação foram obtidos através de espectroscopia UV. Ajuste dos resultados experimentais ao modelo de potência.



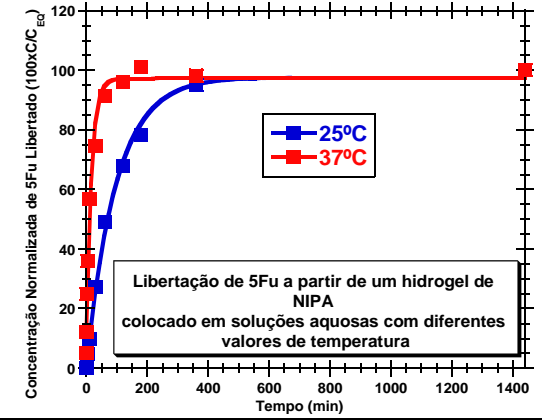
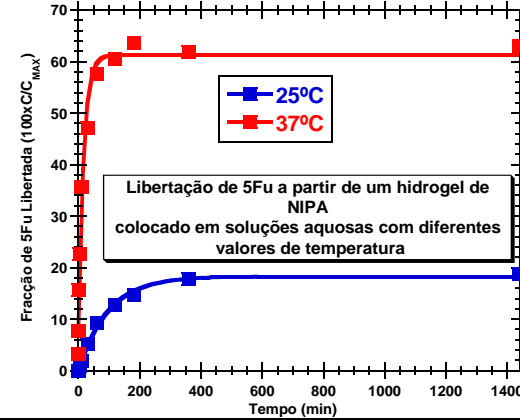
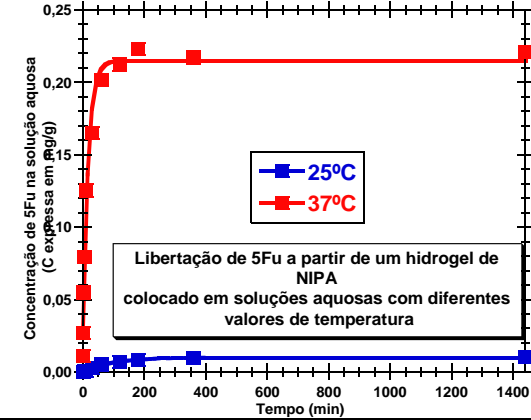
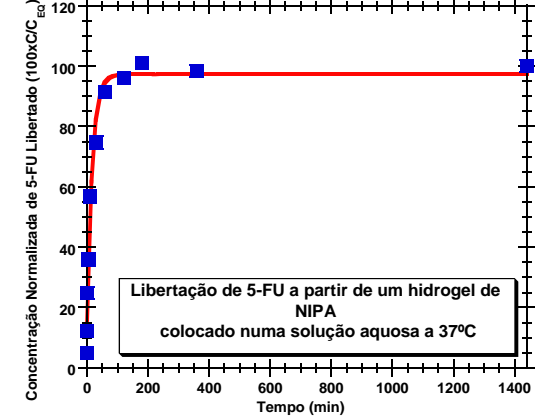
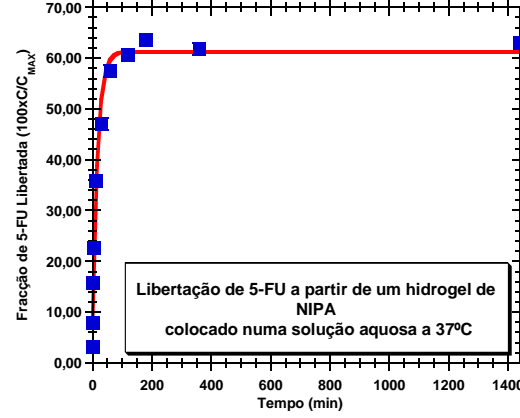
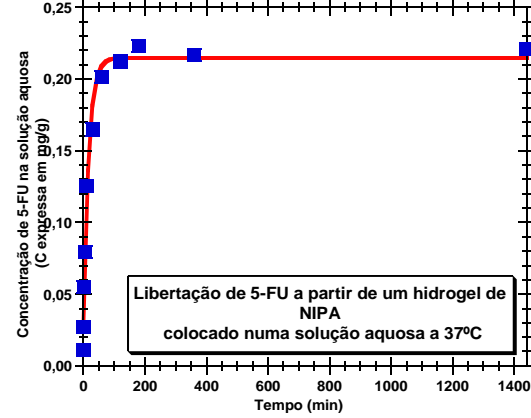
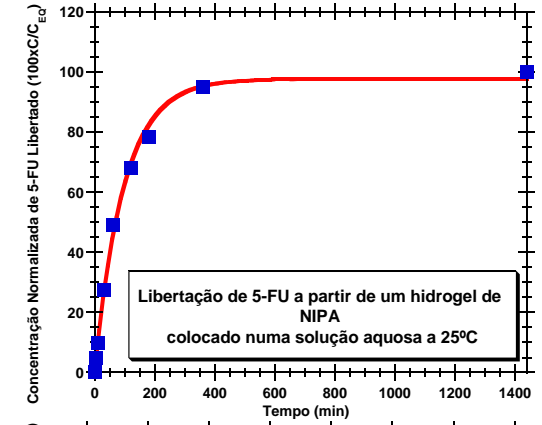
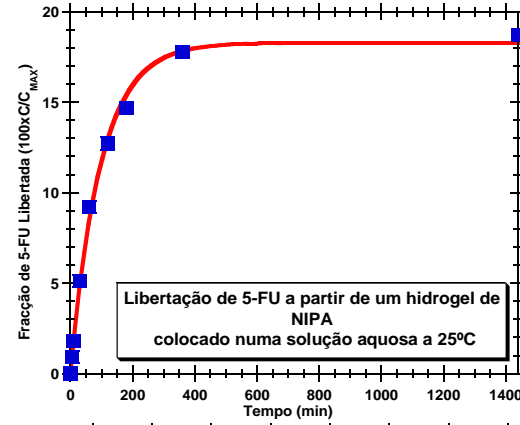
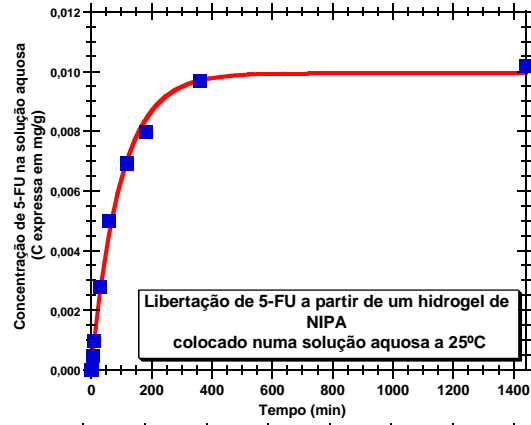
**Anexo E:** Libertação de Cafeína estimulada pela temperatura e pH (hidrogel colocado em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$ ). Nas figuras são apresentados os valores medidos para a quantidade de fármaco libertada (expressa em mg/g hidrogel) e a respectiva concentração normalizada, usando como referência o máximo observado. Faz-se também a comparação dos resultados obtidos com os métodos de incubação A e B. Os dados experimentais da dinâmica de libertação foram obtidos através de espectroscopia UV. Ajuste dos resultados experimentais ao modelo de potência.



**Anexo F:** Liberação de 5-FU estimulada pela temperatura e pH (hidrogel colocado em soluções aquosas a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=1,2$  e  $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{pH}=7,5$ ). Nas figuras são apresentados os valores medidos para a quantidade de fármaco libertada (expressa em mg/ g hidrogel) e a respetiva concentração normalizada, usando como referência o máximo observado. Os dados experimentais da dinâmica de libertação foram obtidos através de espectroscopia UV. Ajuste dos resultados experimentais ao modelo de potência.

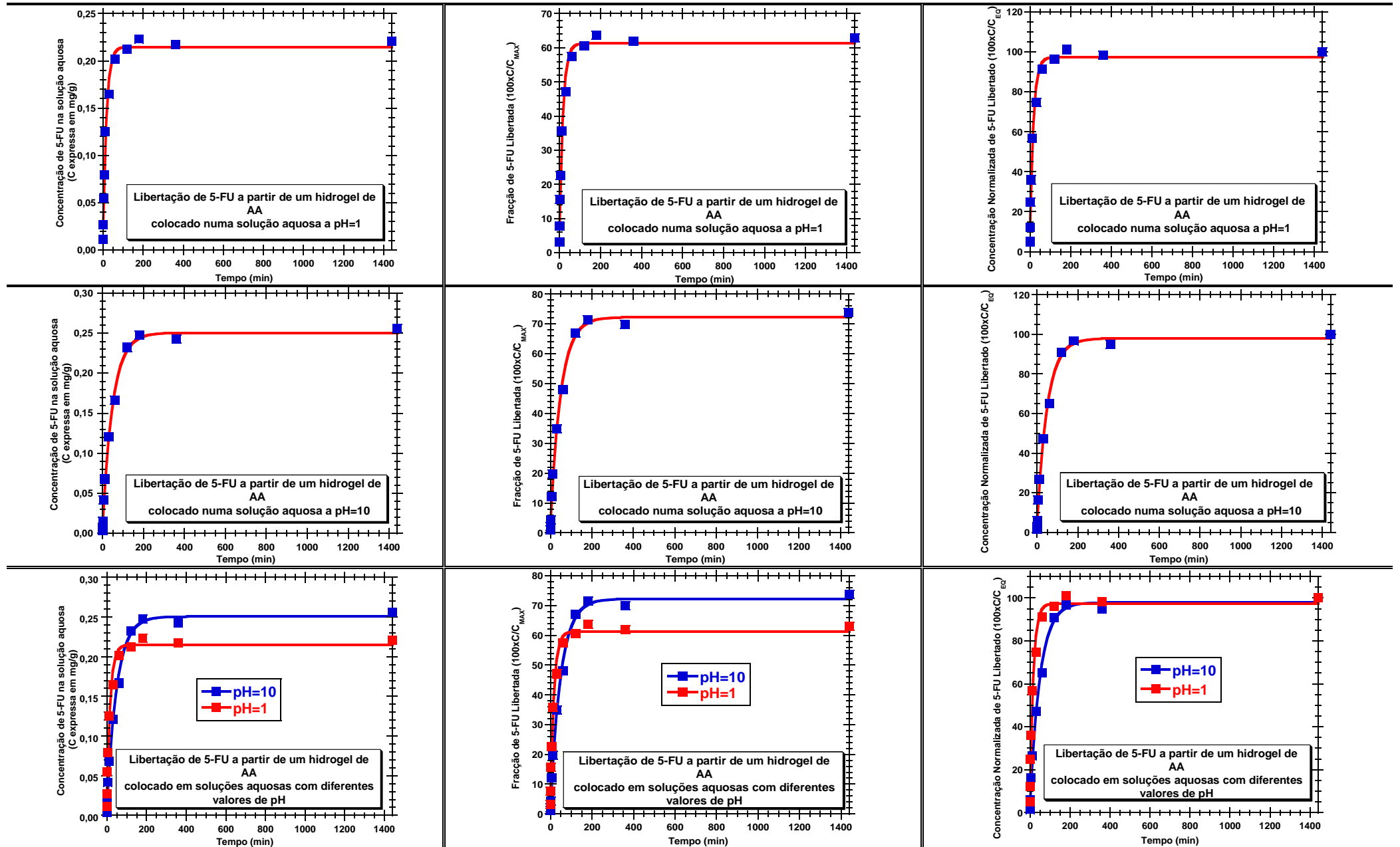


**Anexo G:** Resultados dos testes de liberação realizados com 5-FU num hidrogel de NIPA (HGS1) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).

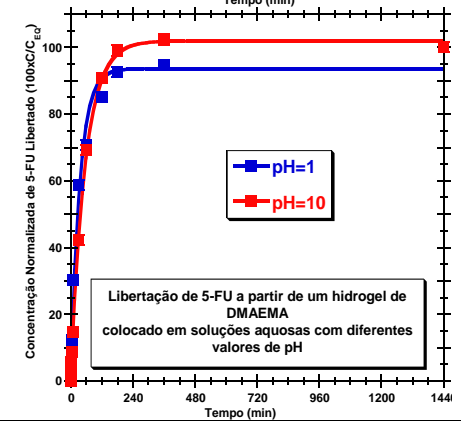
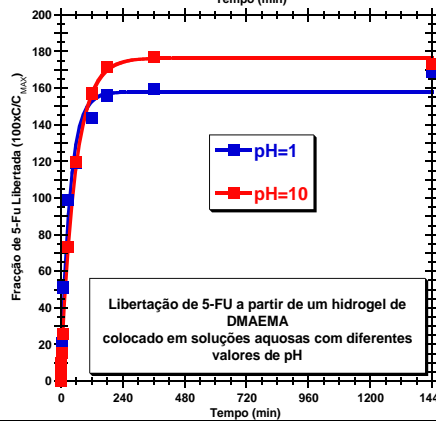
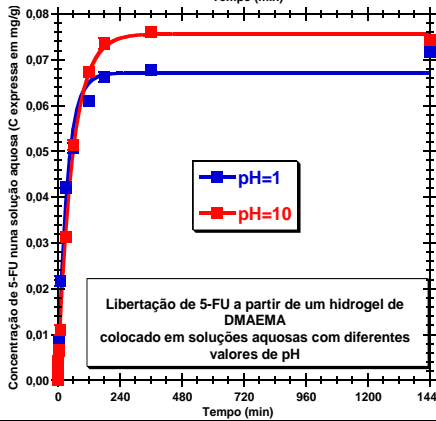
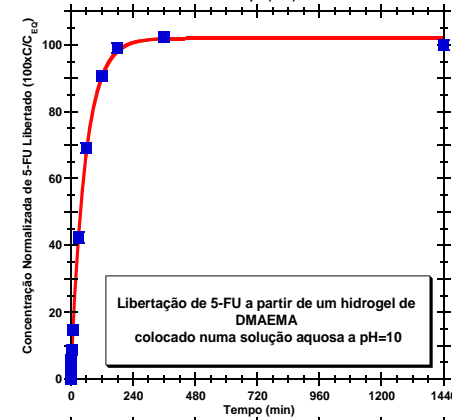
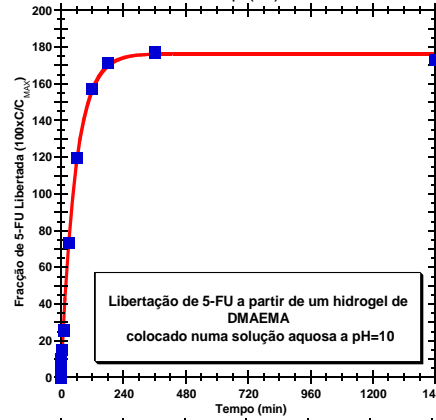
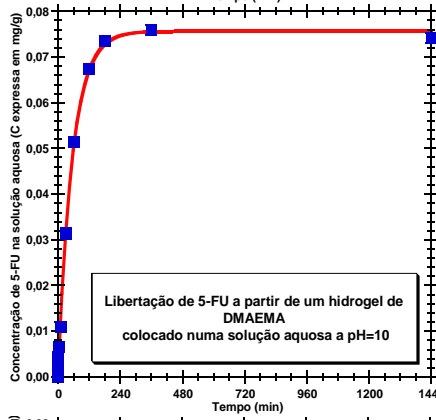
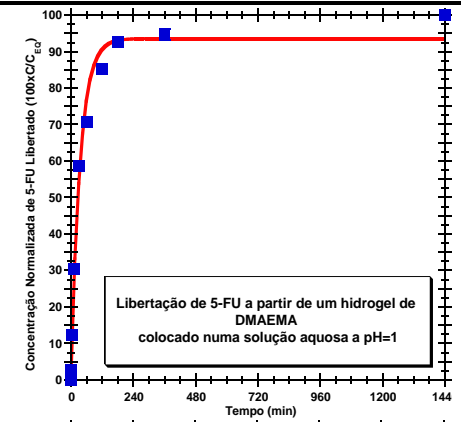
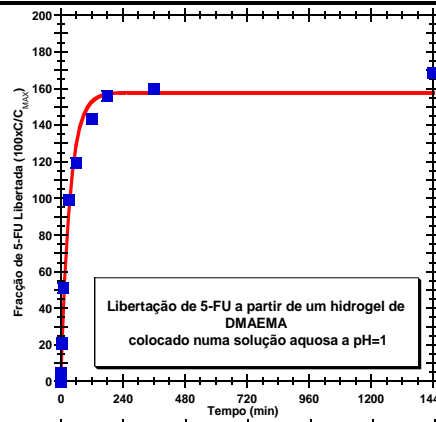
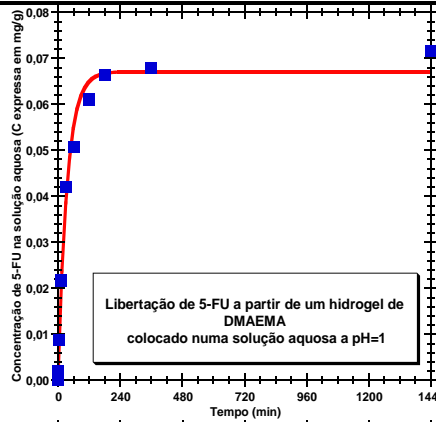


Anexo H: Resultados dos testes de libertação realizados com 5-FU num hidrogel de AA (HGS2) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela

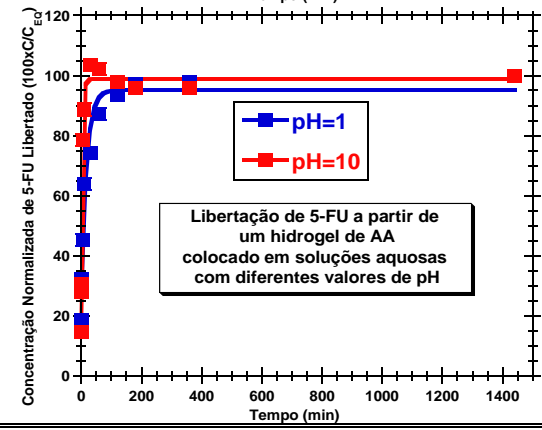
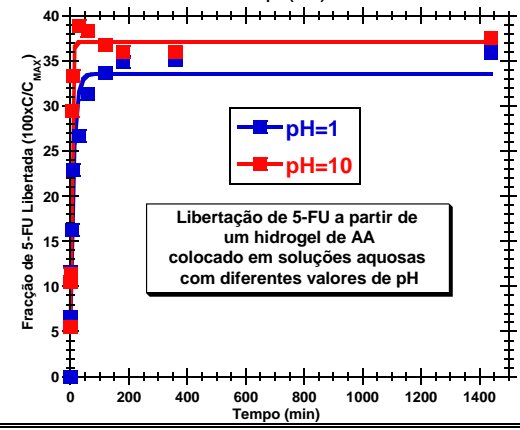
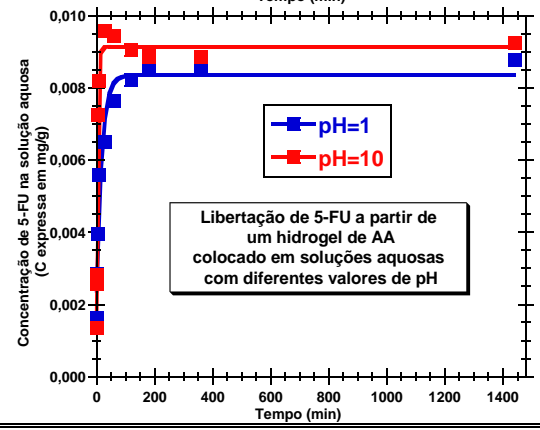
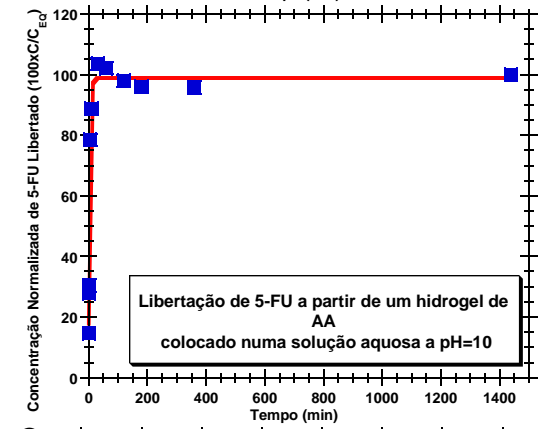
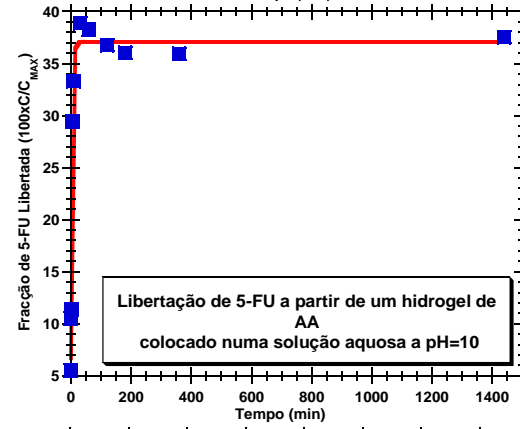
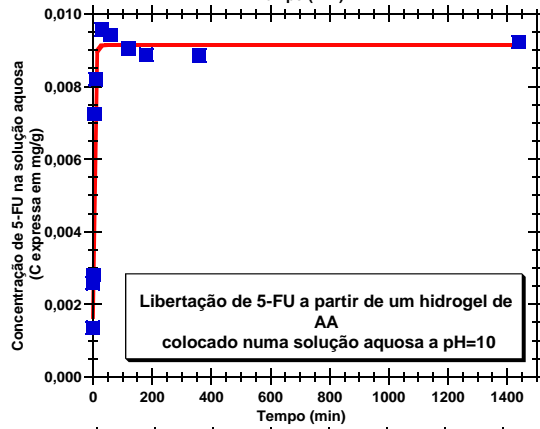
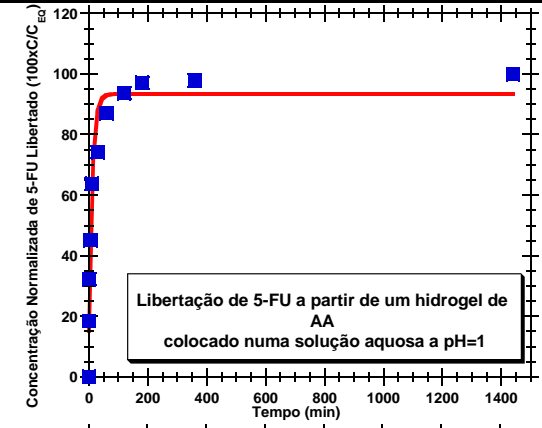
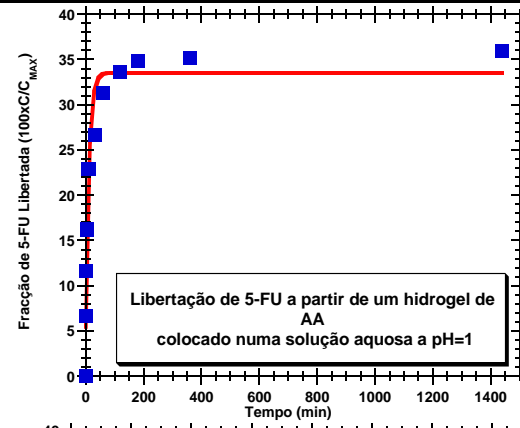
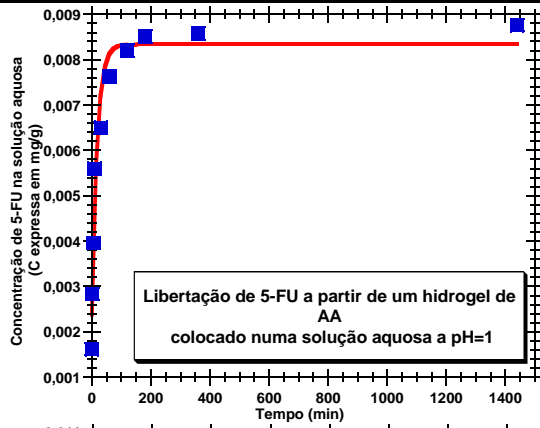
6).



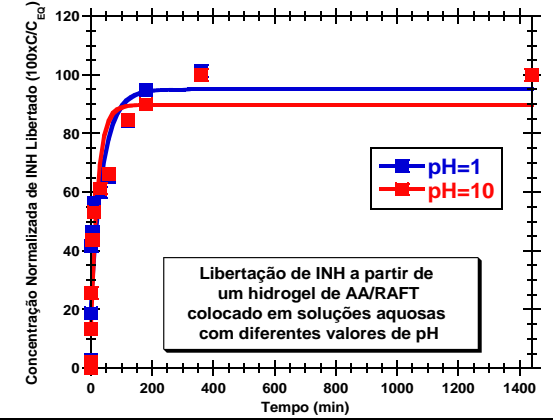
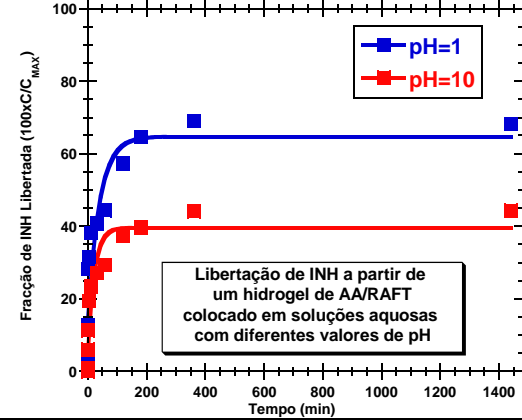
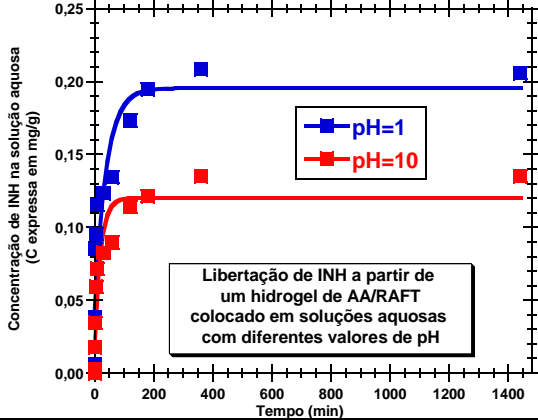
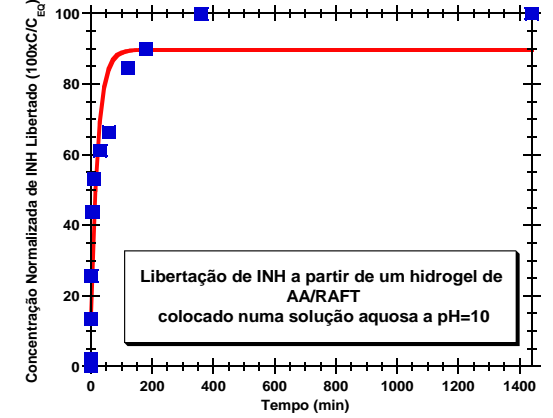
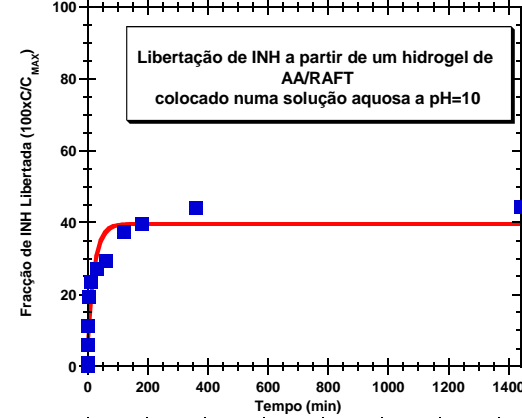
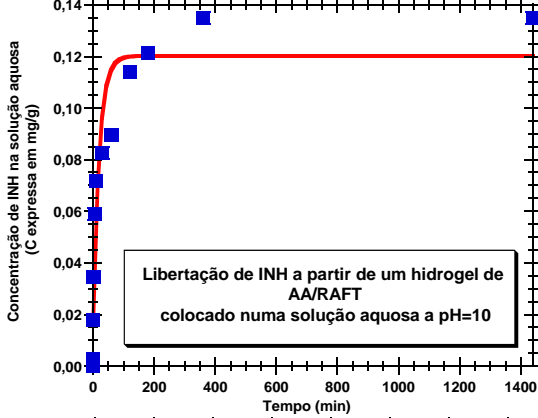
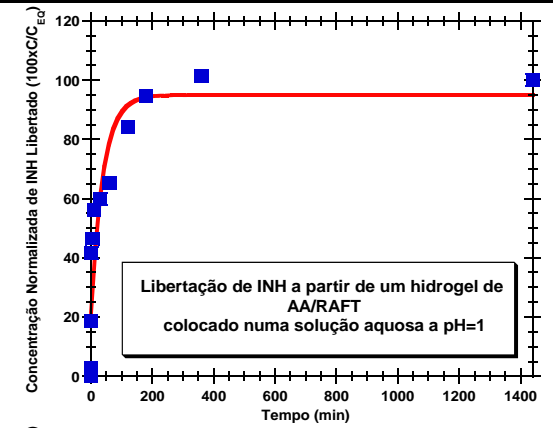
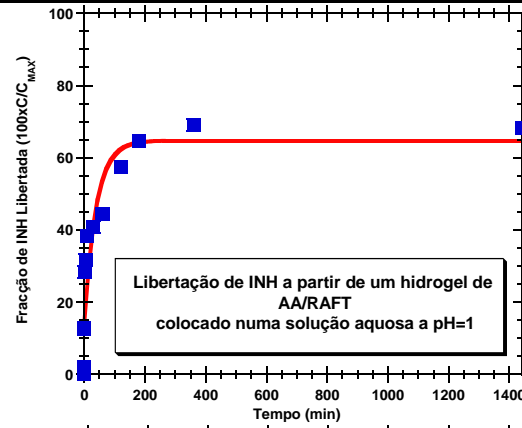
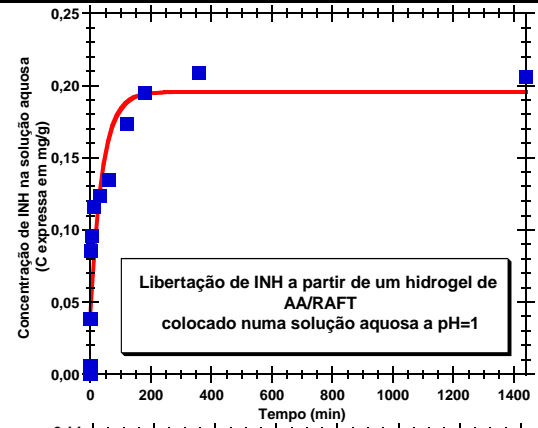
Anexo I: Resultados dos testes de liberação realizados com 5-FU num hidrogel de DMAEMA (HGS3) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



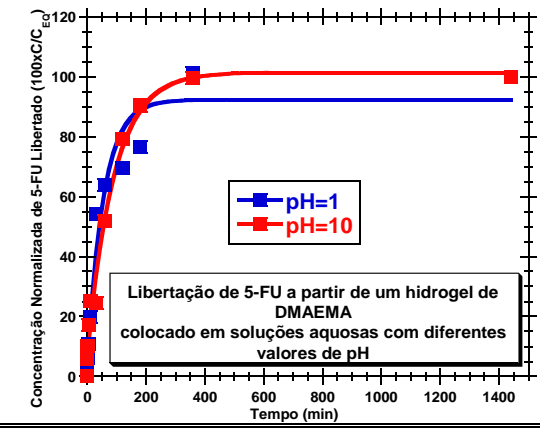
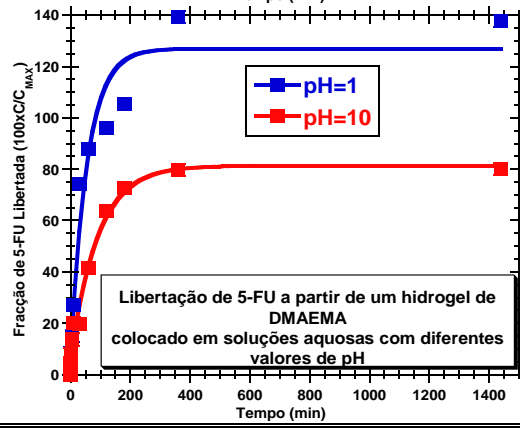
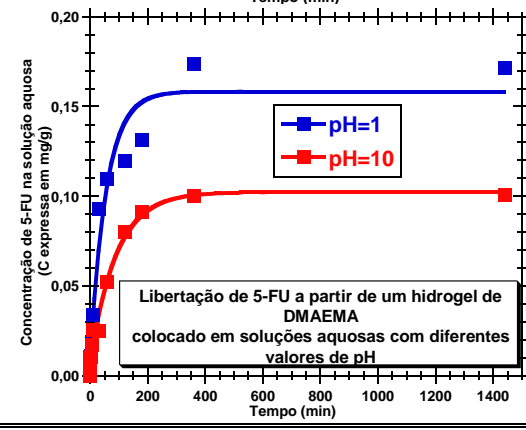
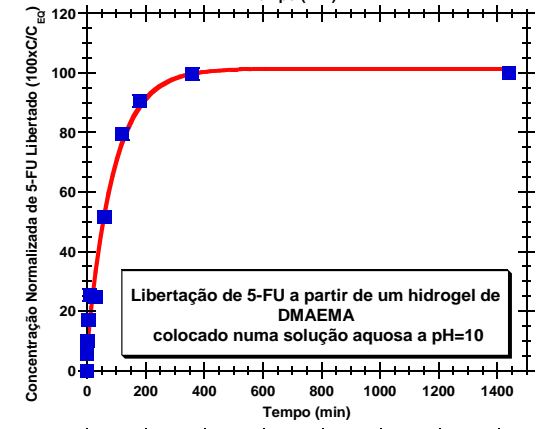
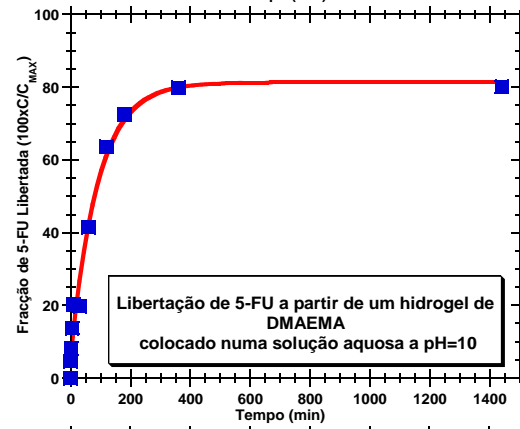
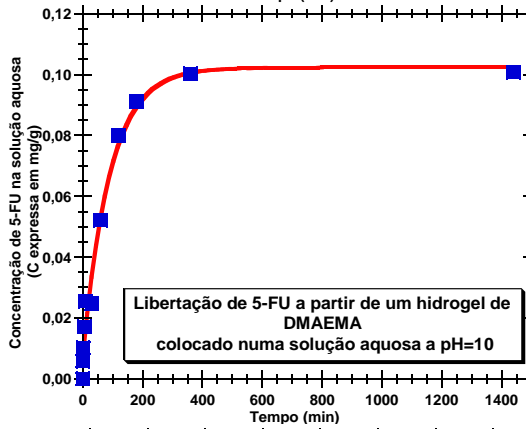
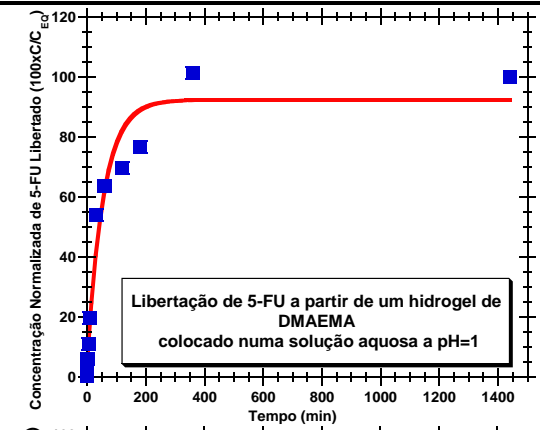
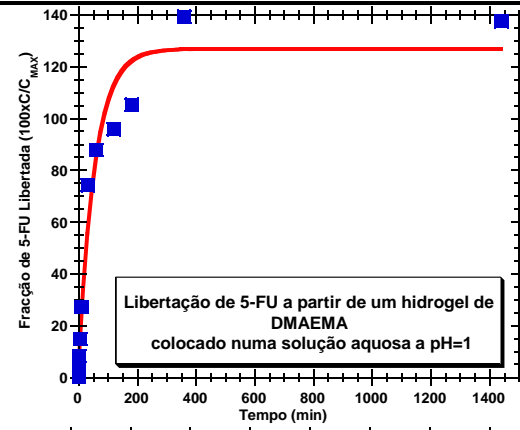
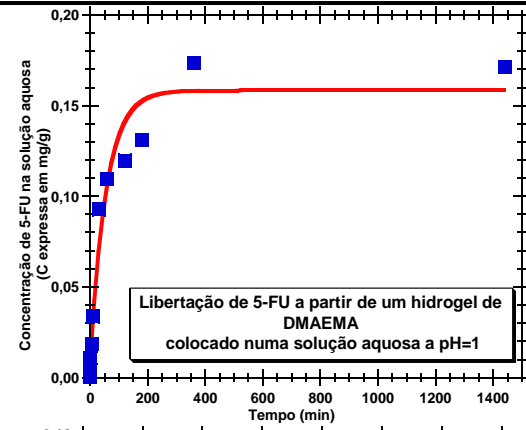
**Anexo J:** Resultados dos testes de libertação realizados com 5-FU num hidrogel de AA\_RAFT (HGS4) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



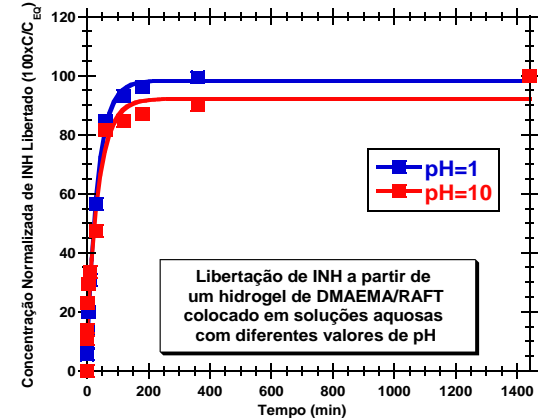
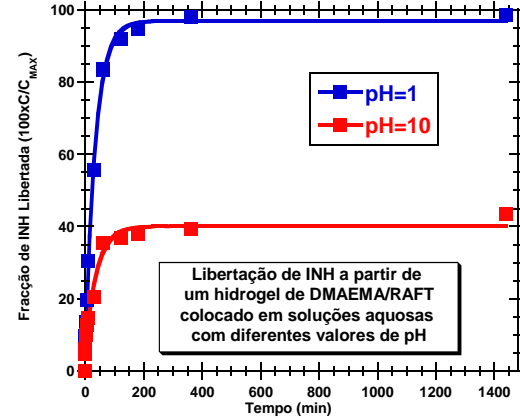
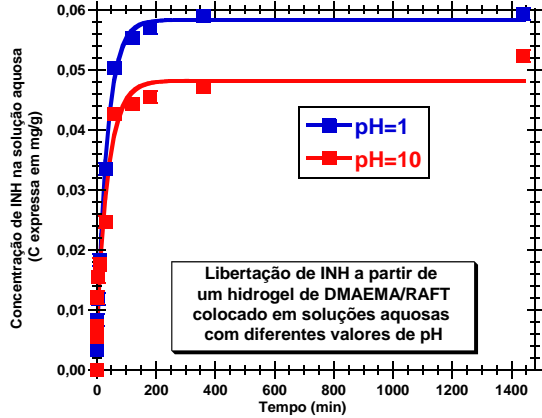
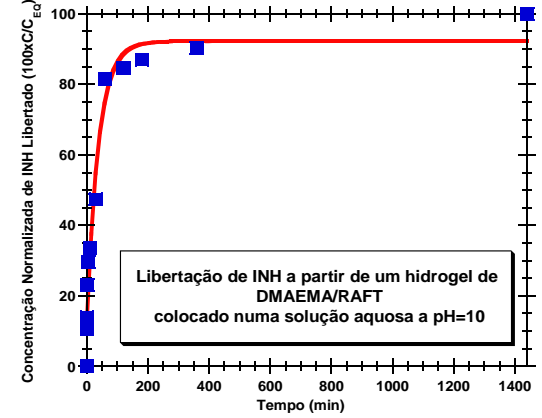
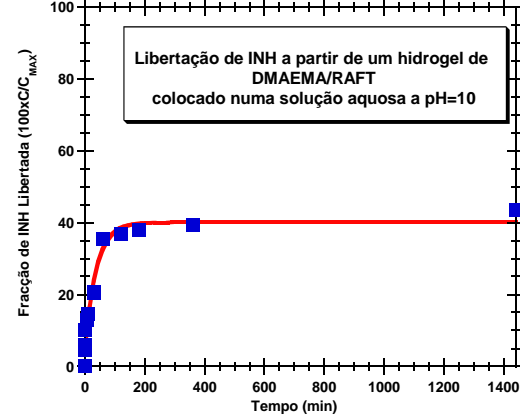
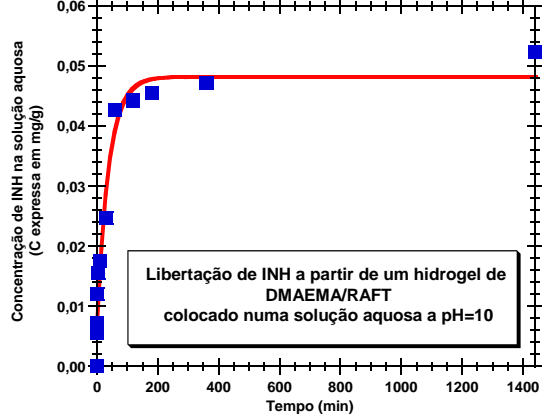
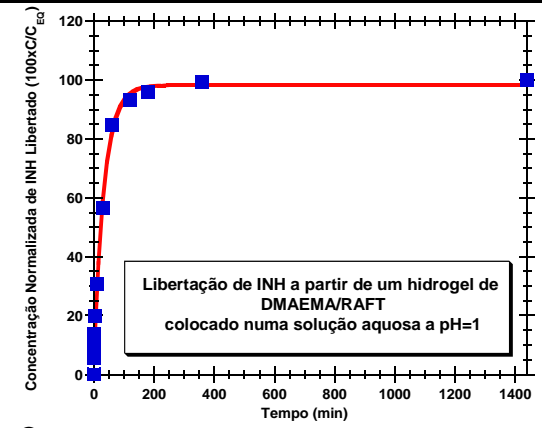
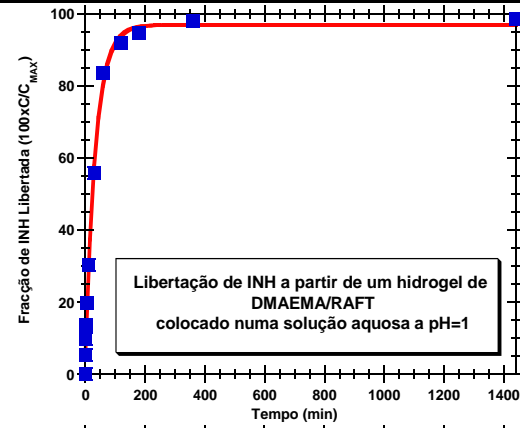
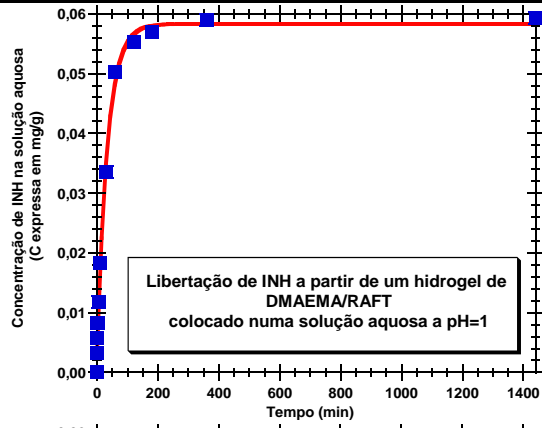
**Anexo K:** Resultados dos testes de libertação realizados com INH num hidrogel de AA\_RAFT (HGS4) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



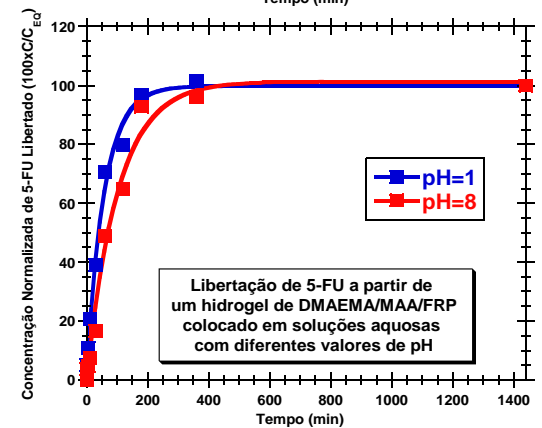
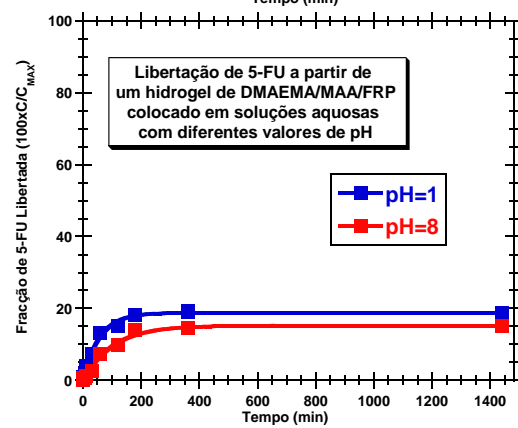
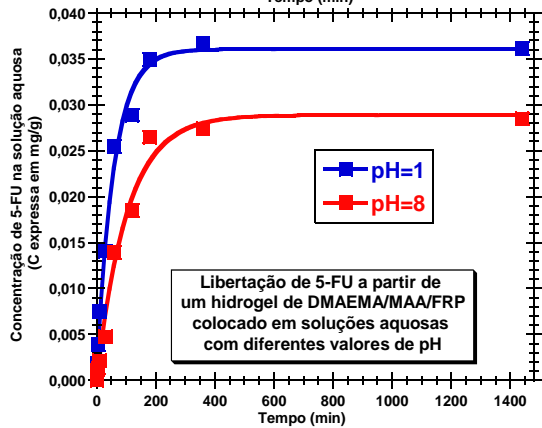
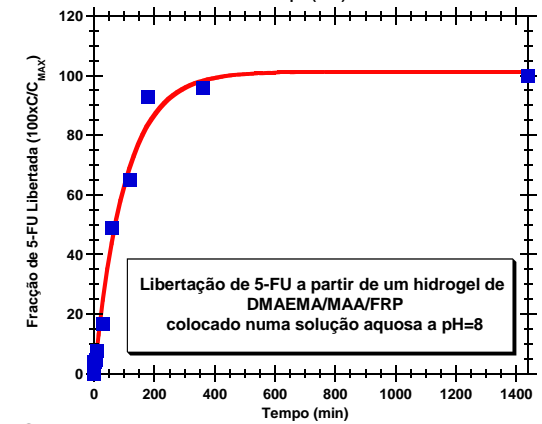
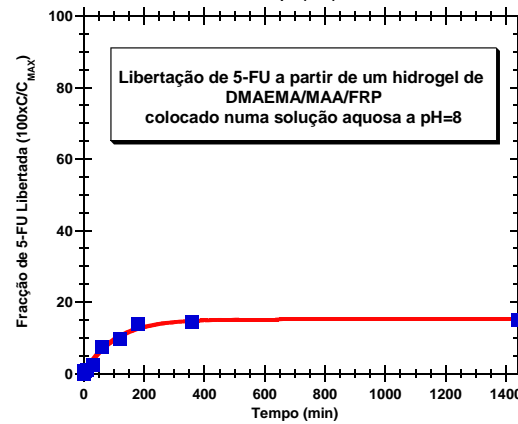
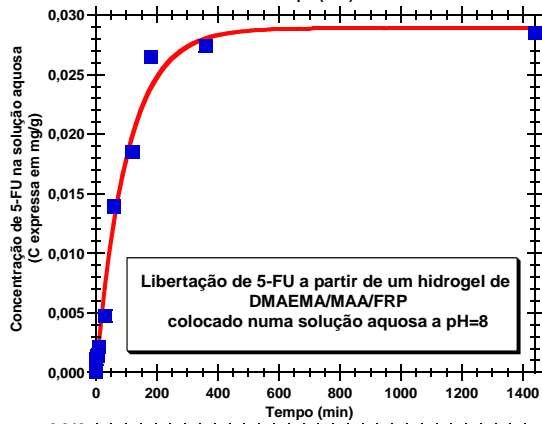
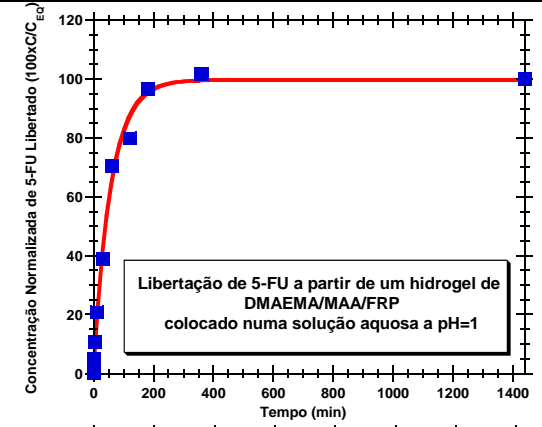
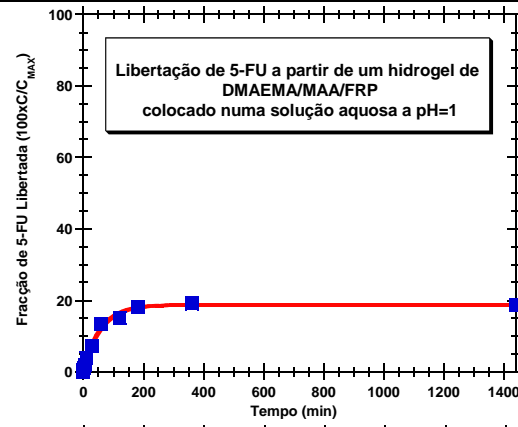
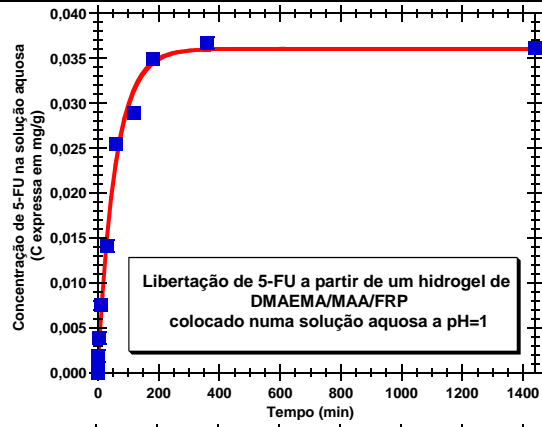
**Anexo L:** Resultados dos testes de libertação realizados com 5FU num hidrogel de DMAEMA\_RAFT (HGS5) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



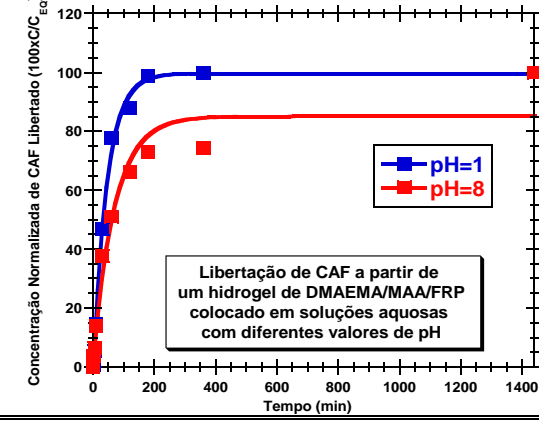
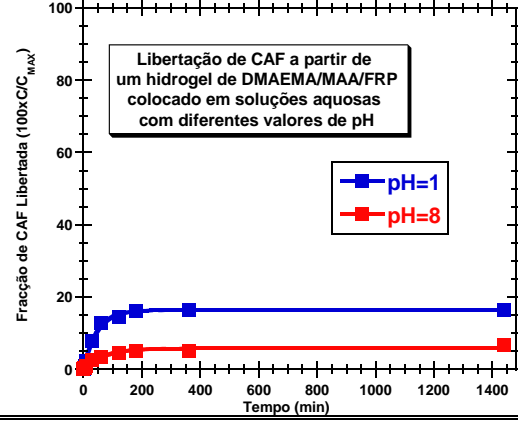
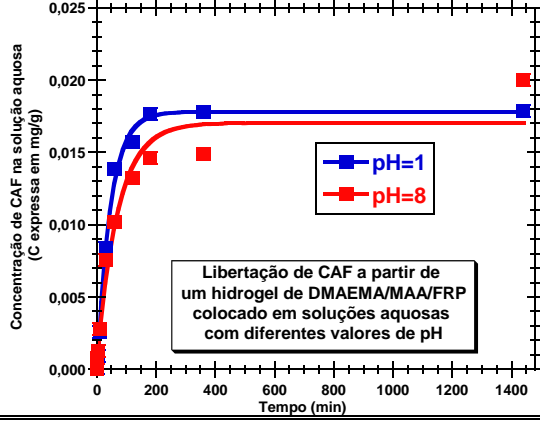
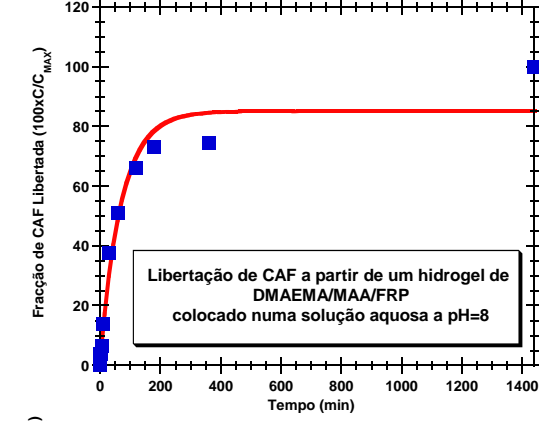
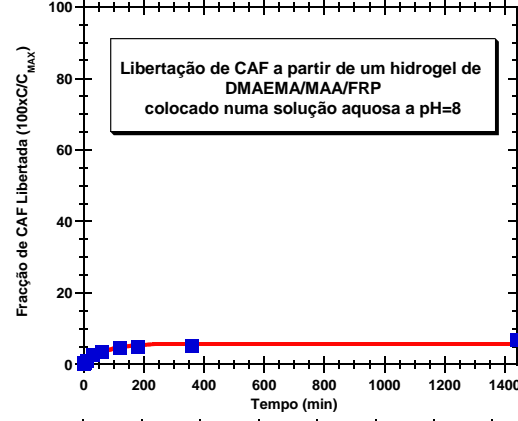
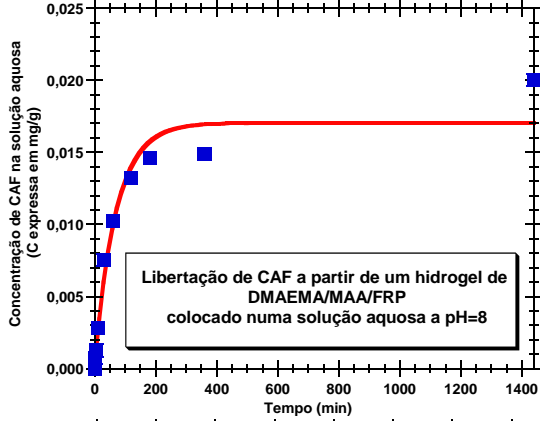
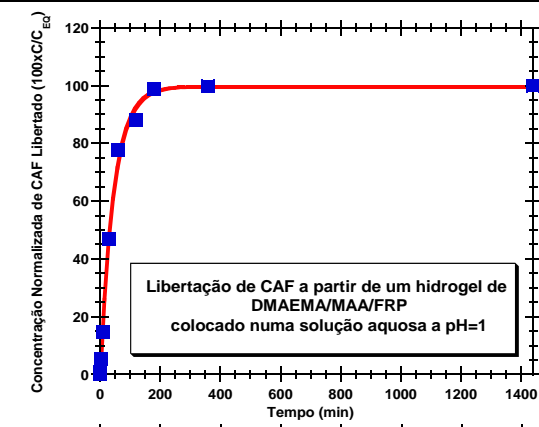
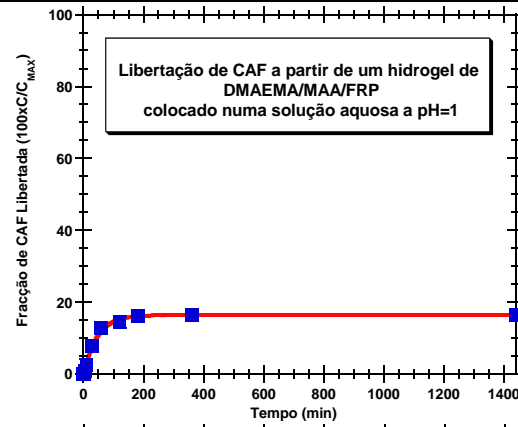
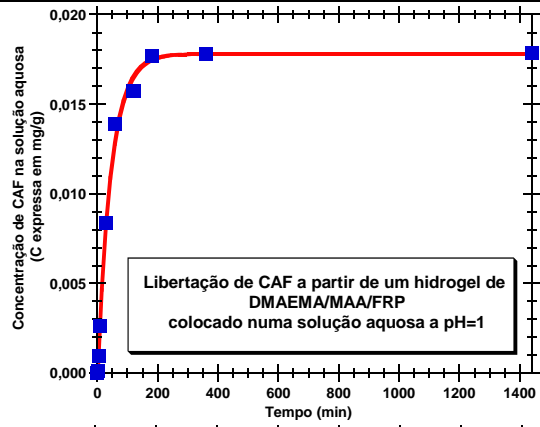
**Anexo M:** Resultados dos testes de liberação realizados com INH num hidrogel de DMAEMA\_RAFT (HGS5) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



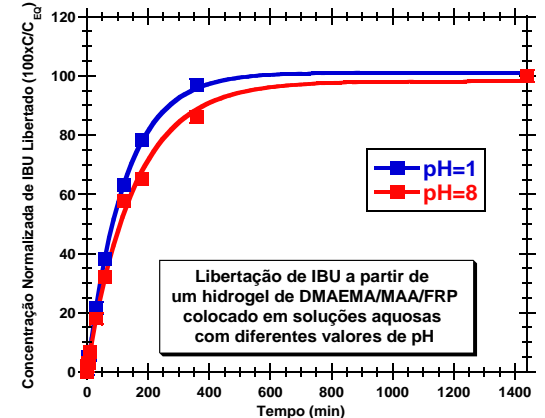
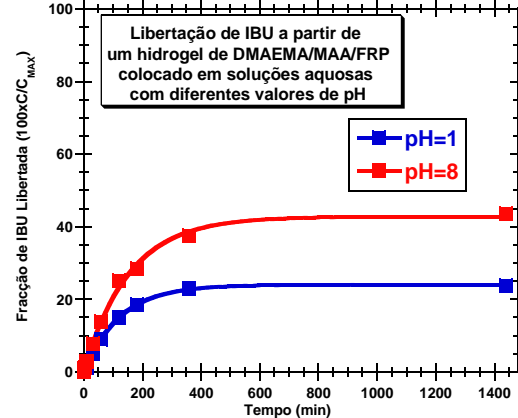
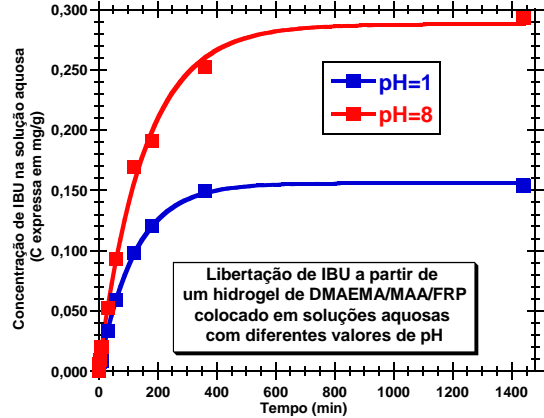
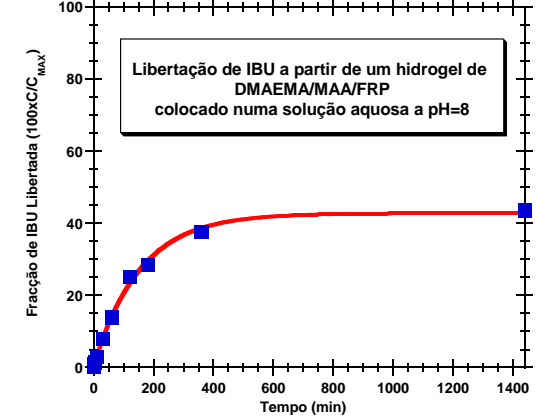
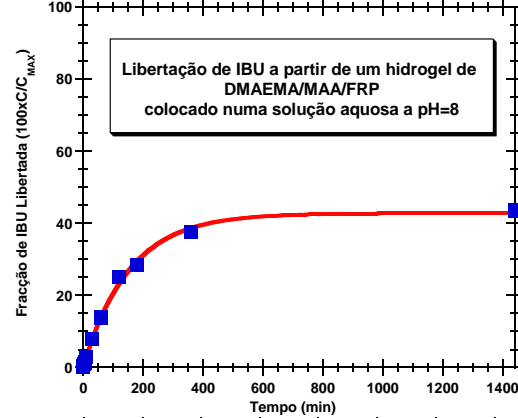
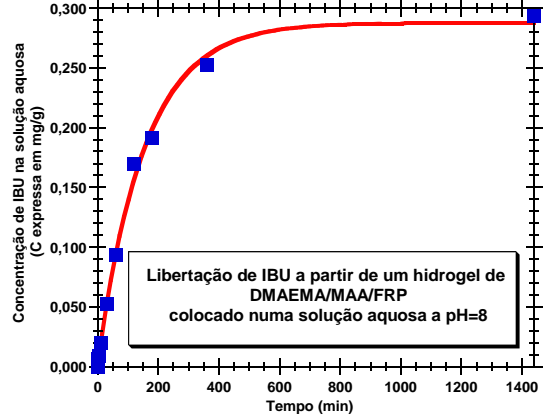
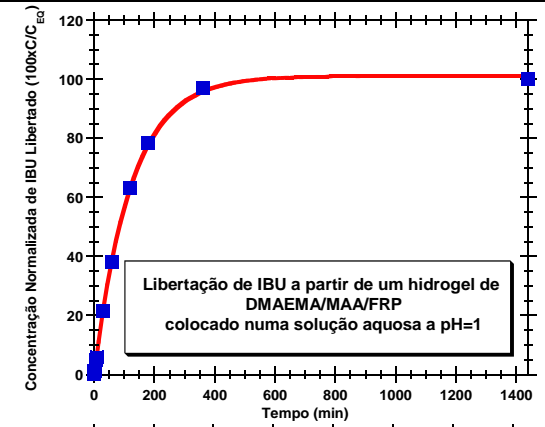
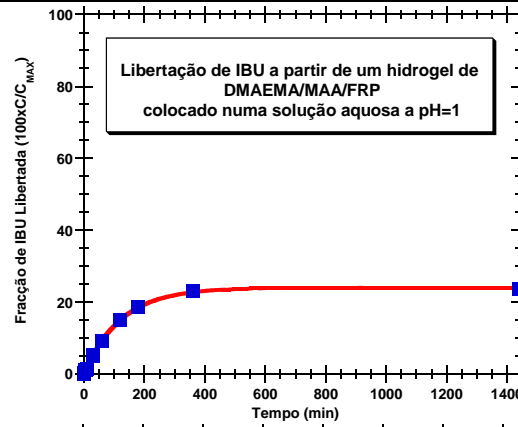
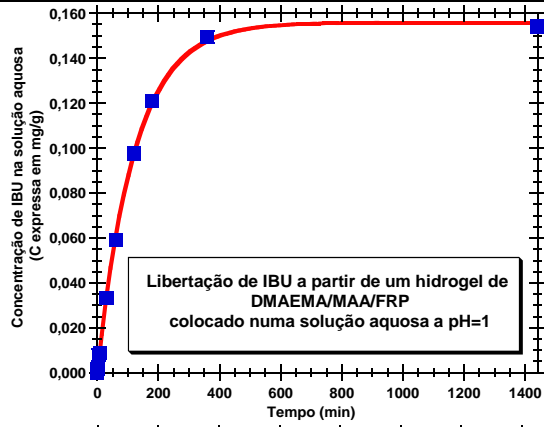
Anexo N: Resultados dos testes de liberação realizados com 5-FU num hidrogel de DMAEMA\_MAA\_FRP (HGS6) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



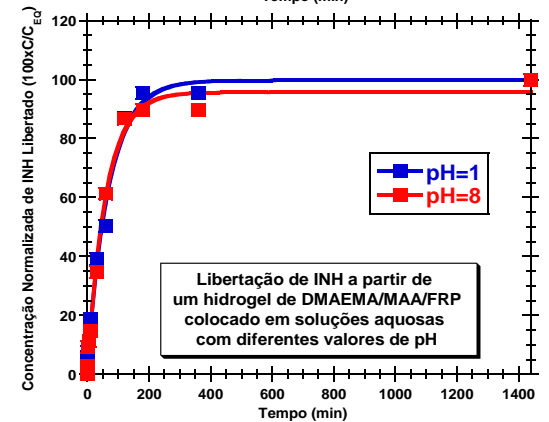
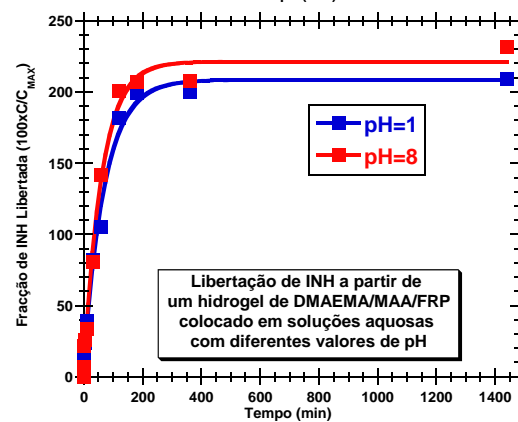
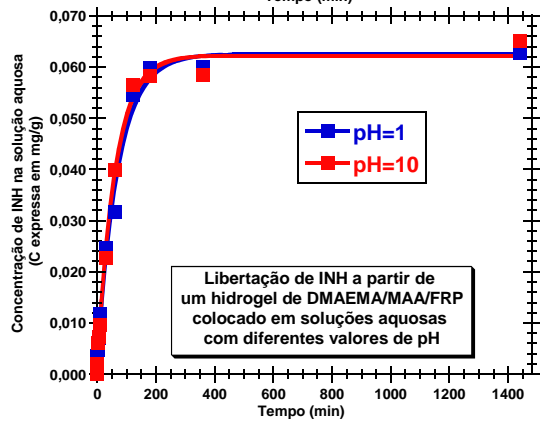
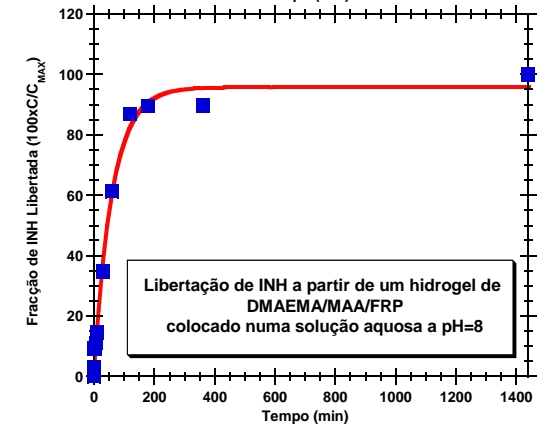
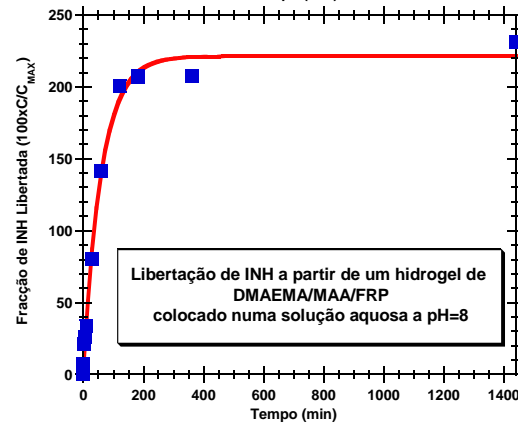
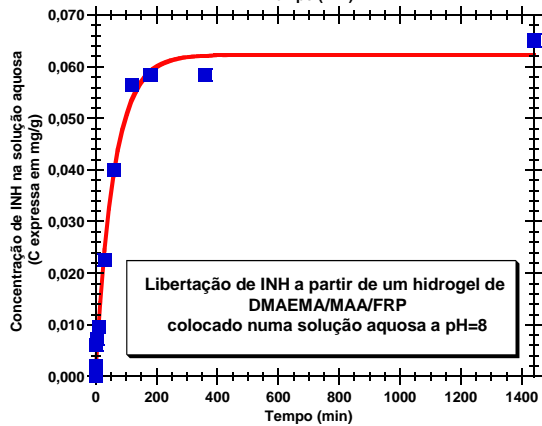
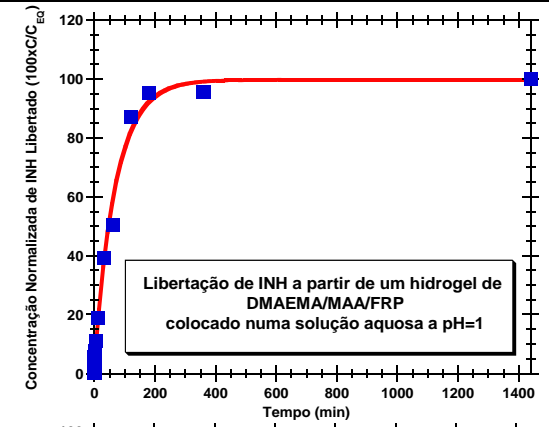
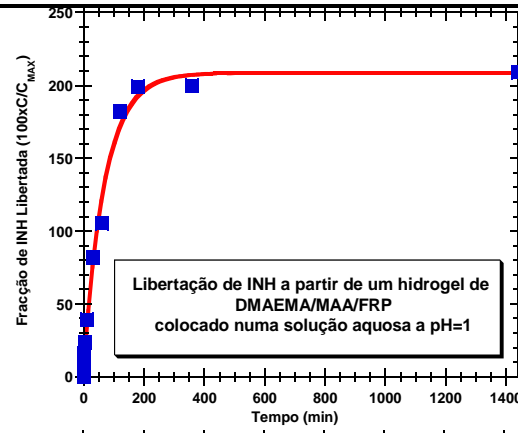
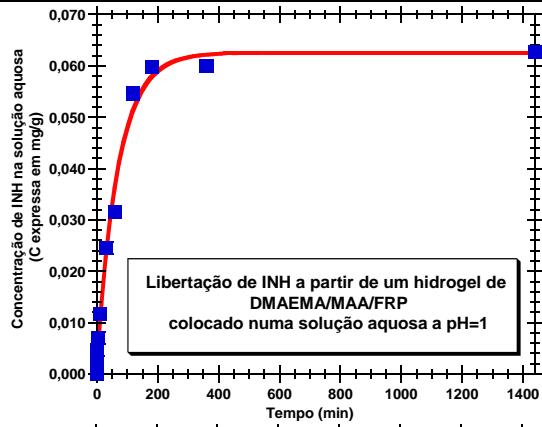
**Anexo O:** Resultados dos testes de liberação realizados com CAF num hidrogel de DMAEMA\_MAA\_FRP (HGS6) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



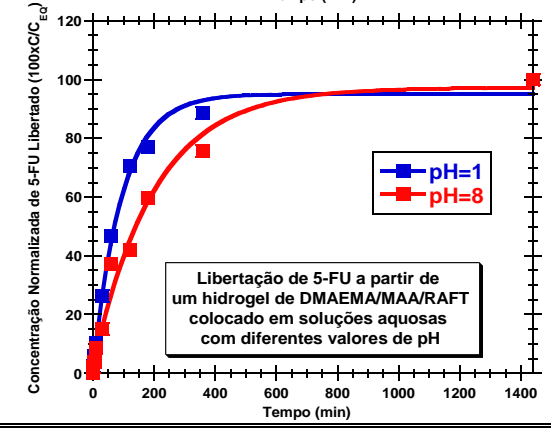
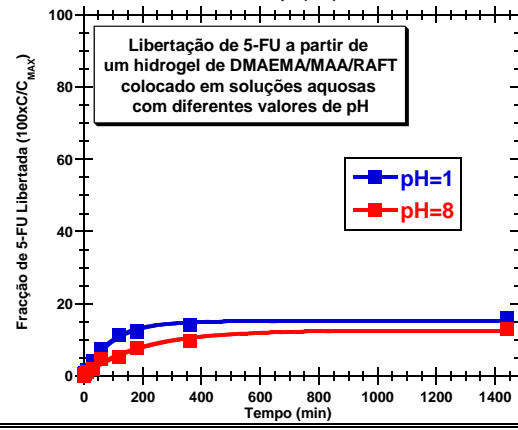
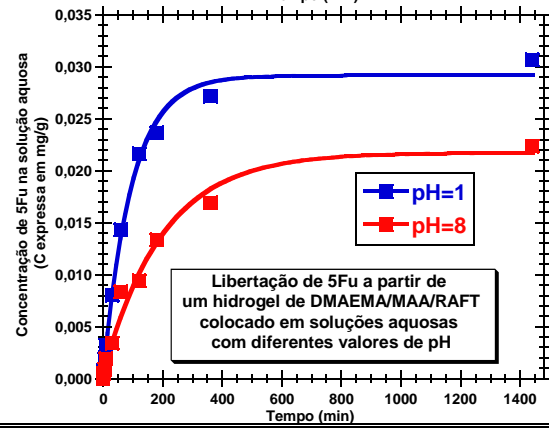
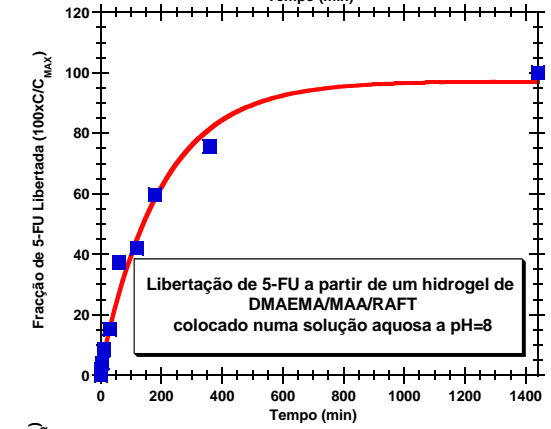
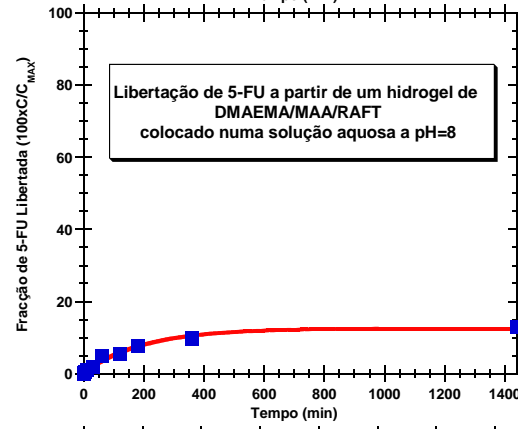
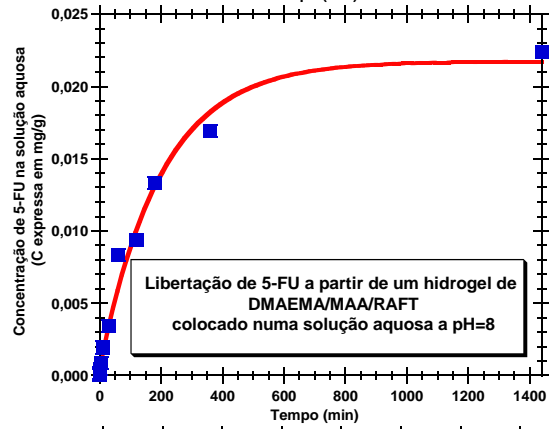
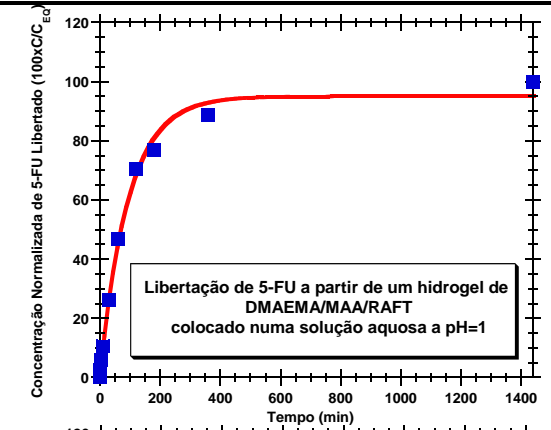
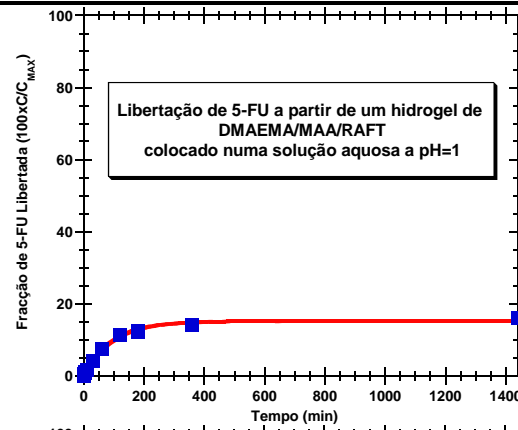
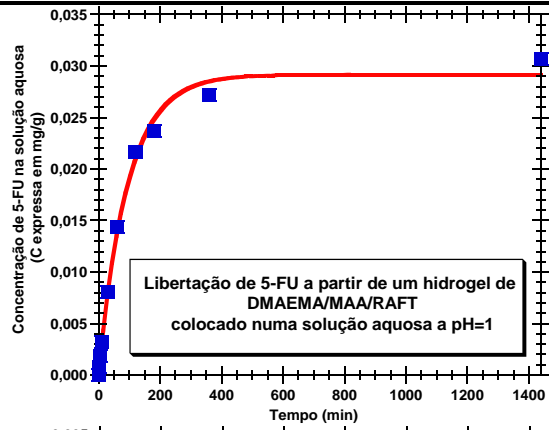
**Anexo P:** Resultados dos testes de liberação realizados com IBU num hidrogel de DMAEMA\_MAA\_FRP (HGS6) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



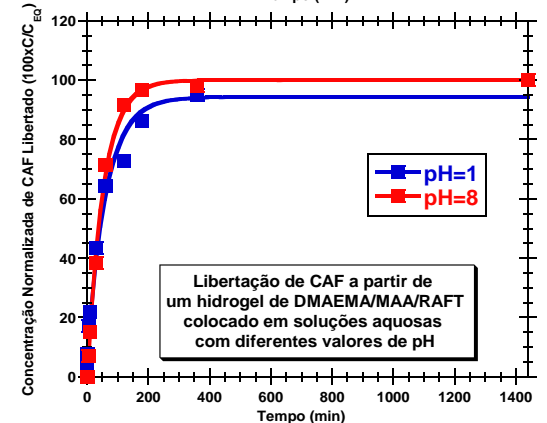
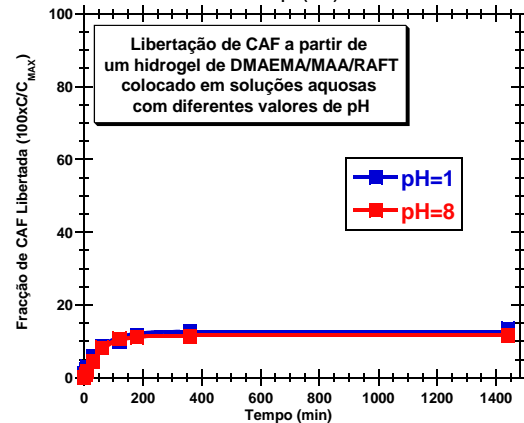
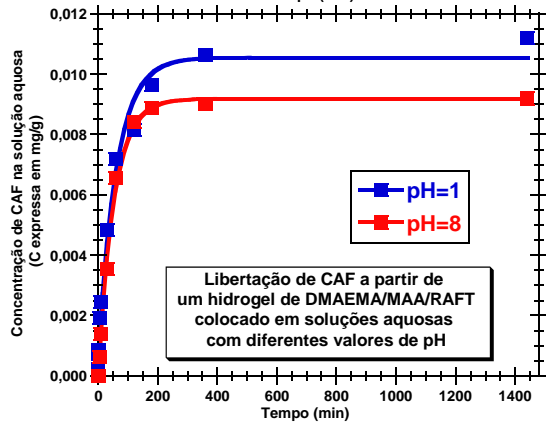
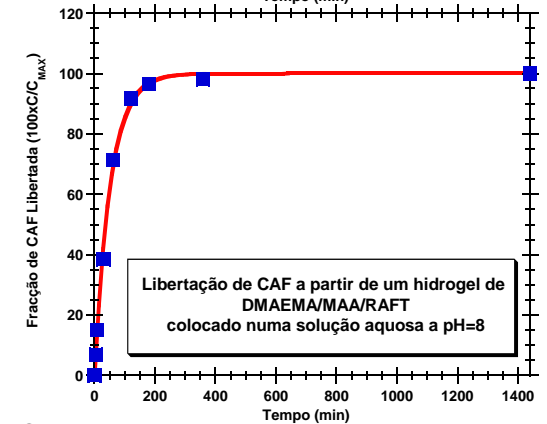
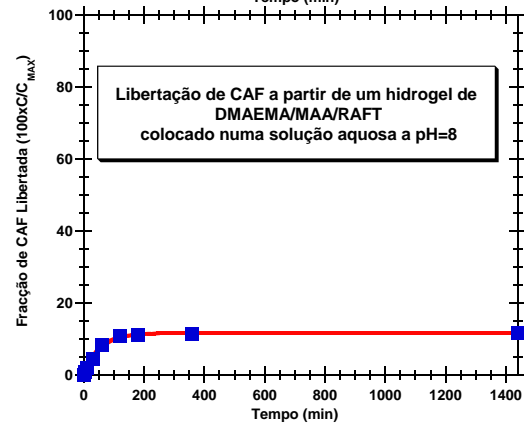
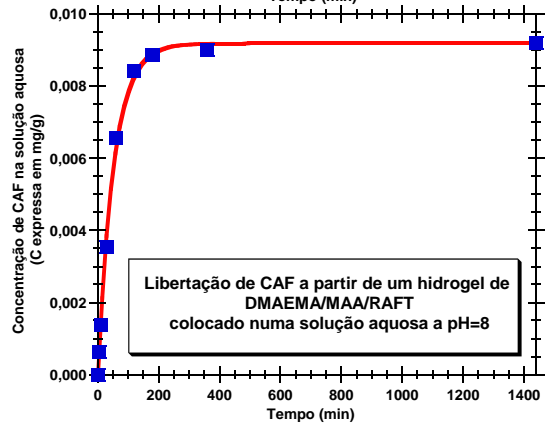
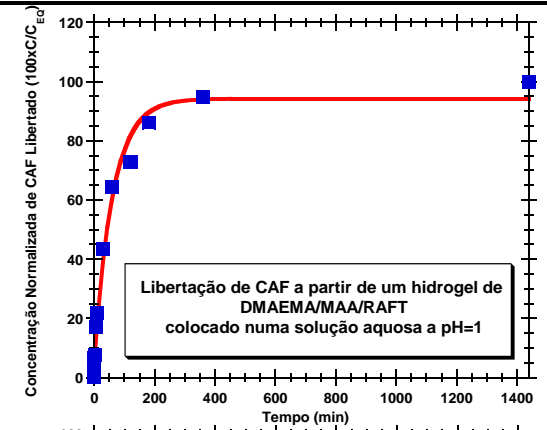
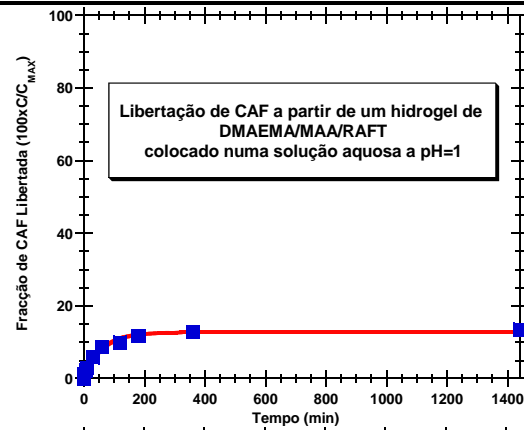
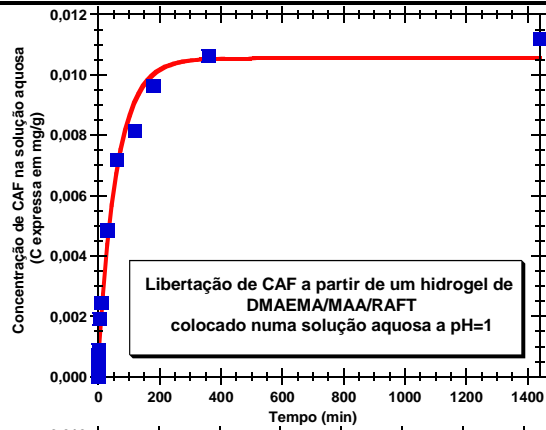
**Anexo Q:** Resultados dos testes de liberação realizados com INH num hidrogel de DMAEMA\_MAA\_FRP (HGS6) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



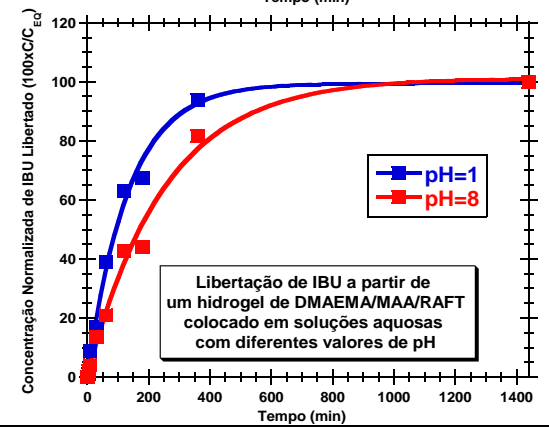
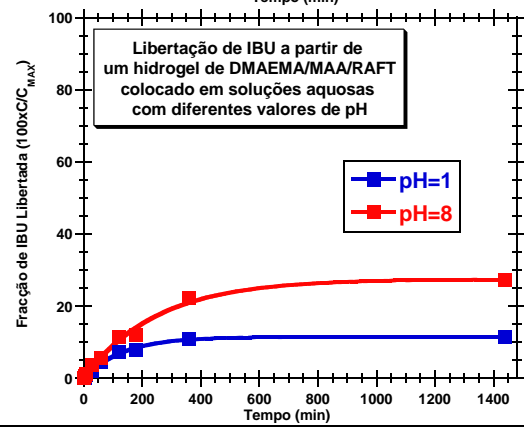
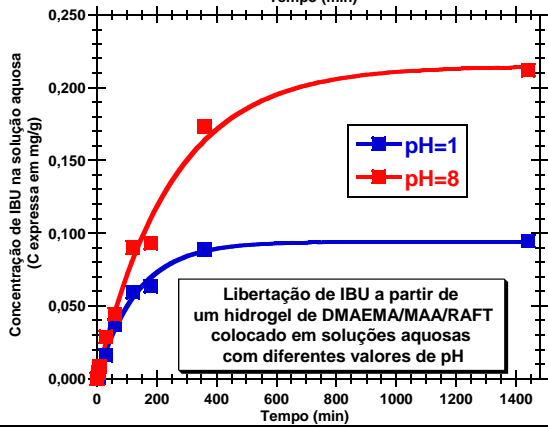
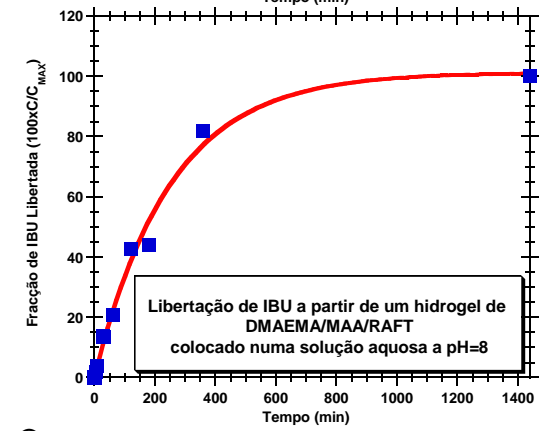
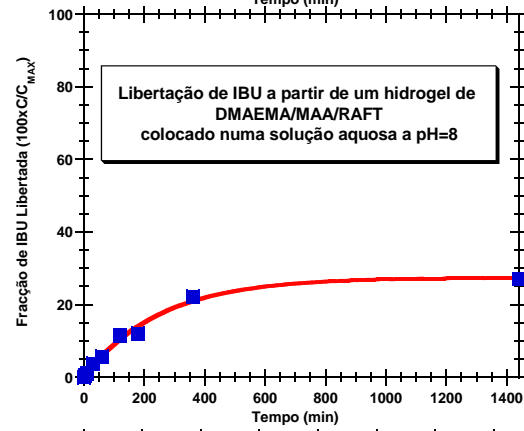
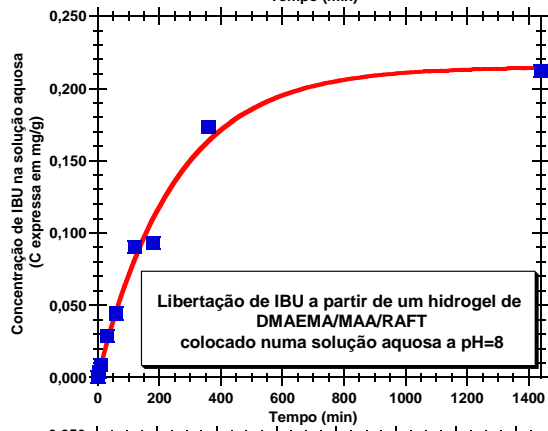
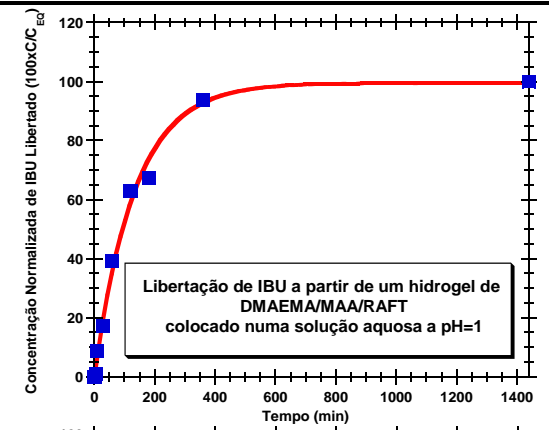
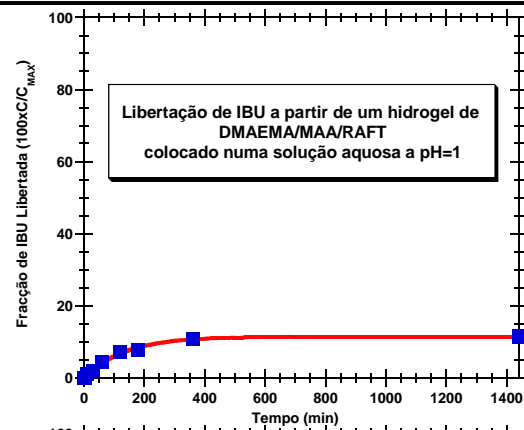
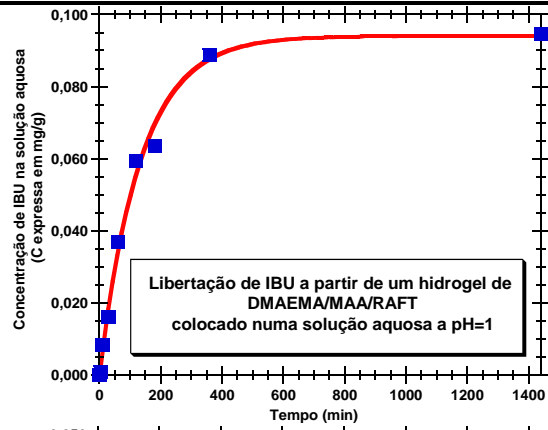
**Anexo R:** Resultados dos testes de liberação realizados com 5-FU num hidrogel de DMAEMA\_MAA\_RAFT (HGS7) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



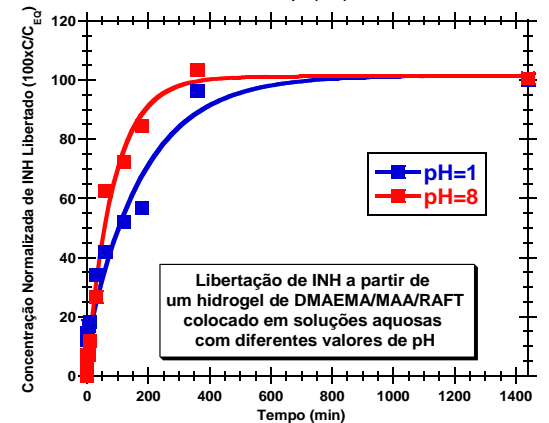
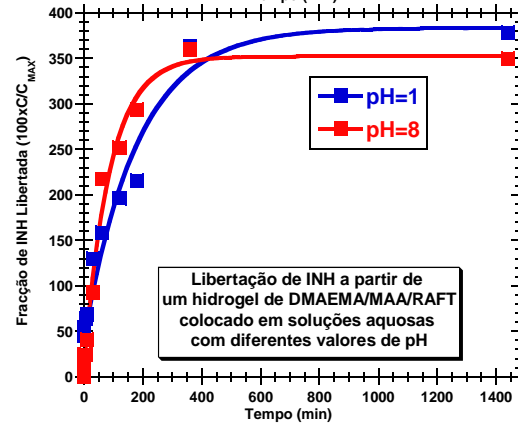
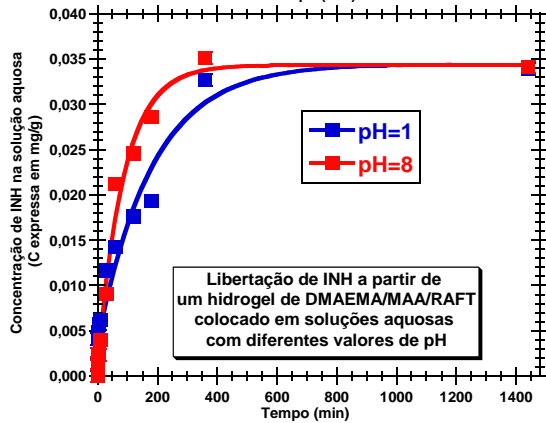
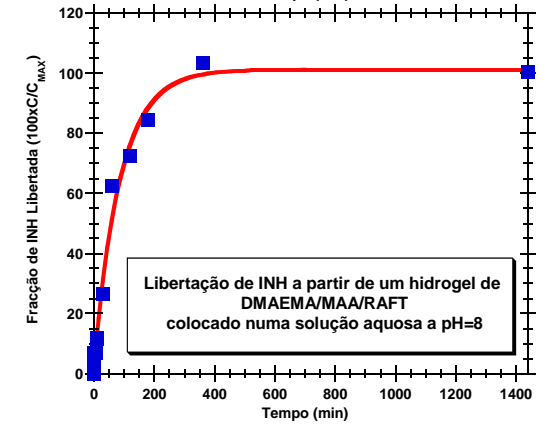
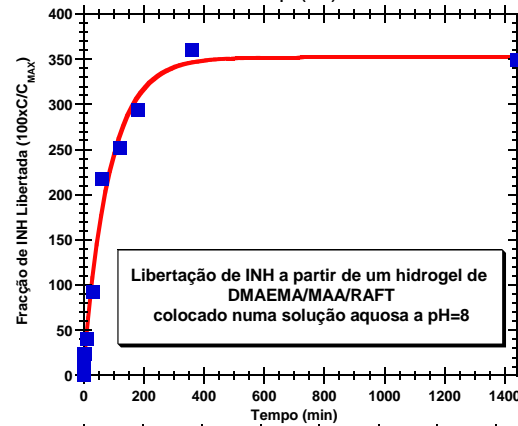
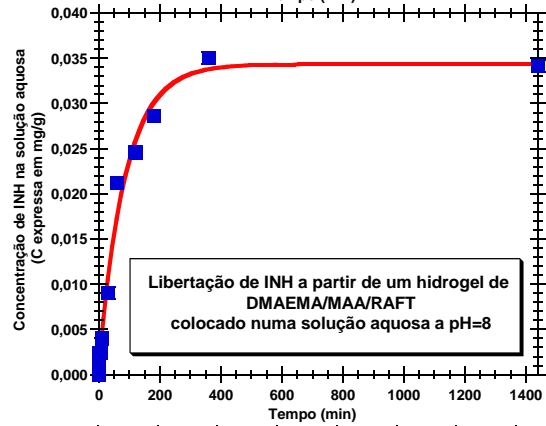
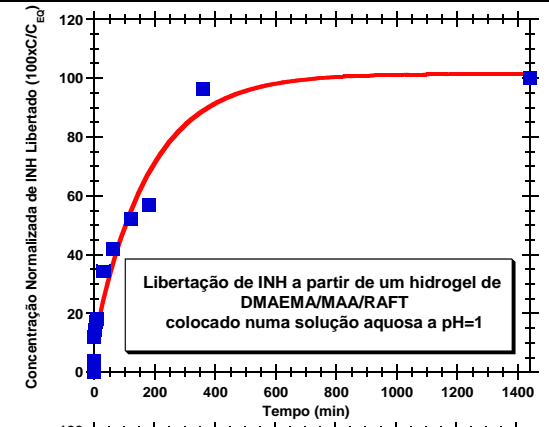
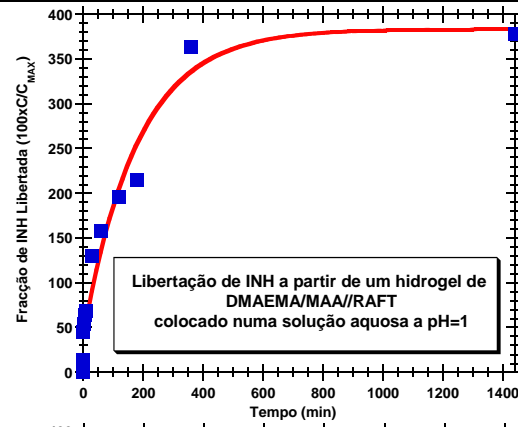
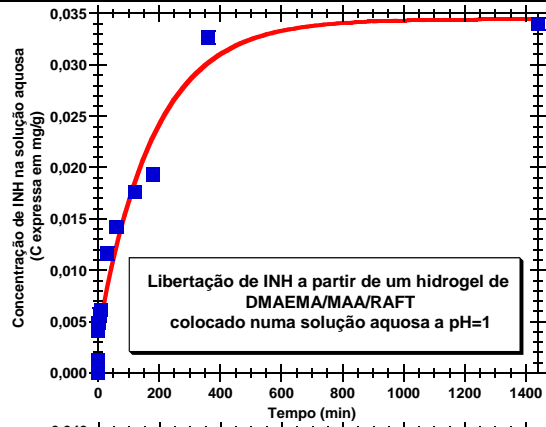
**Anexo S:** Resultados dos testes de liberação realizados com CAF num hidrogel de DMAEMA\_MAA\_RAFT (HGS7) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



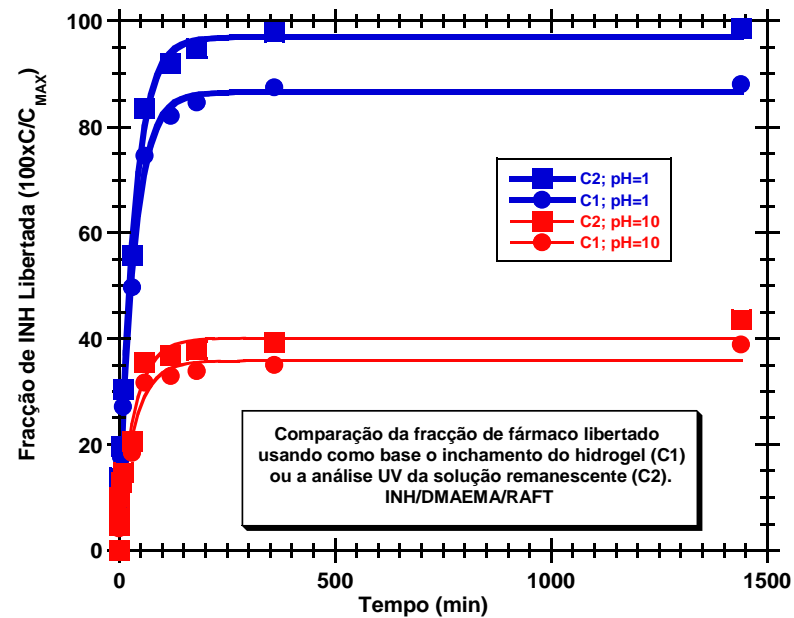
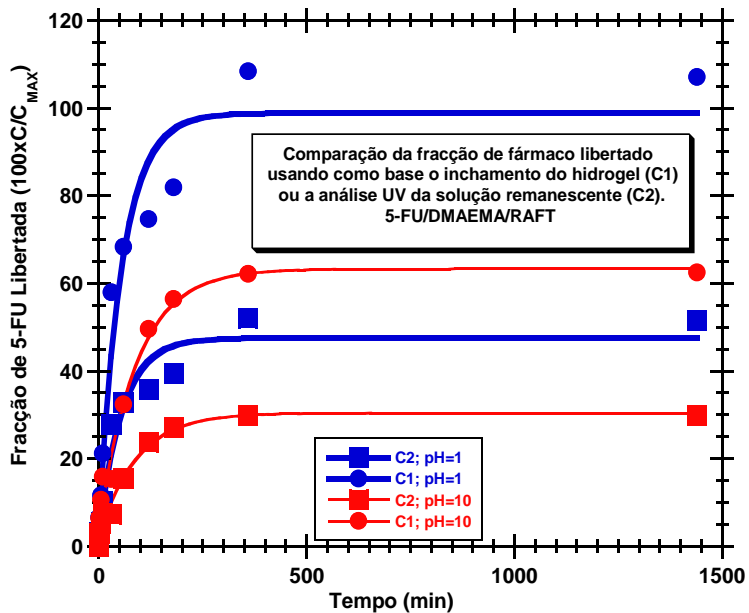
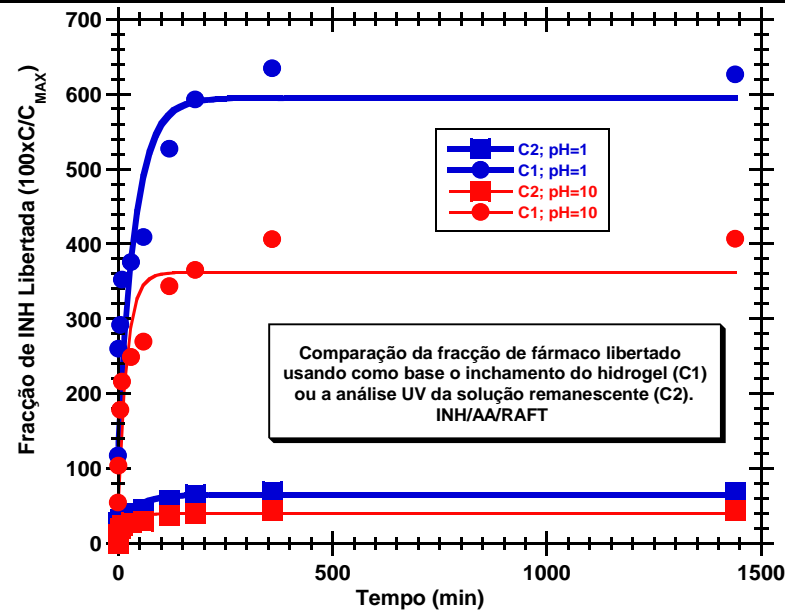
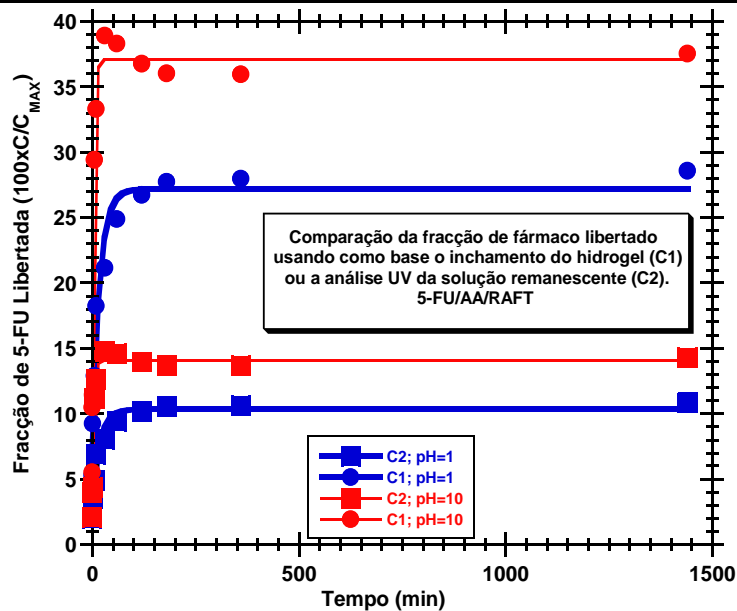
**Anexo T:** Resultados dos testes de liberação realizados com IBU num hidrogel de DMAEMA\_MAA\_RAFT (HGS7) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



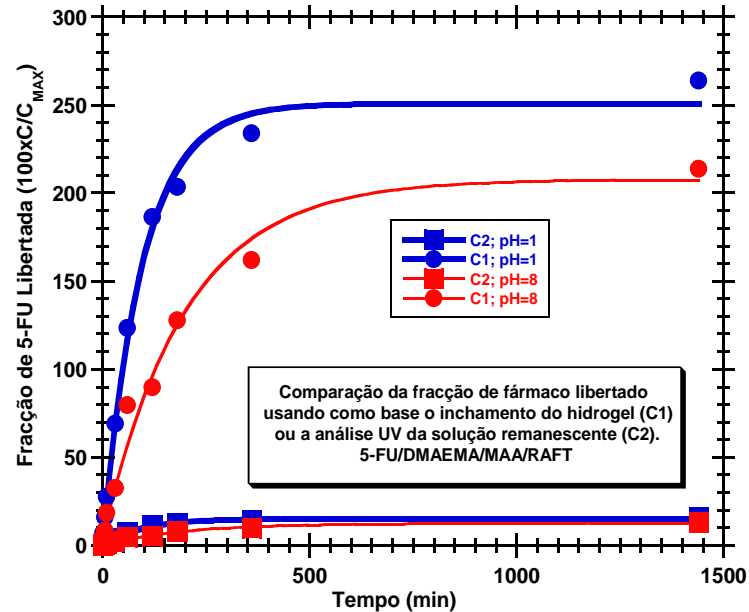
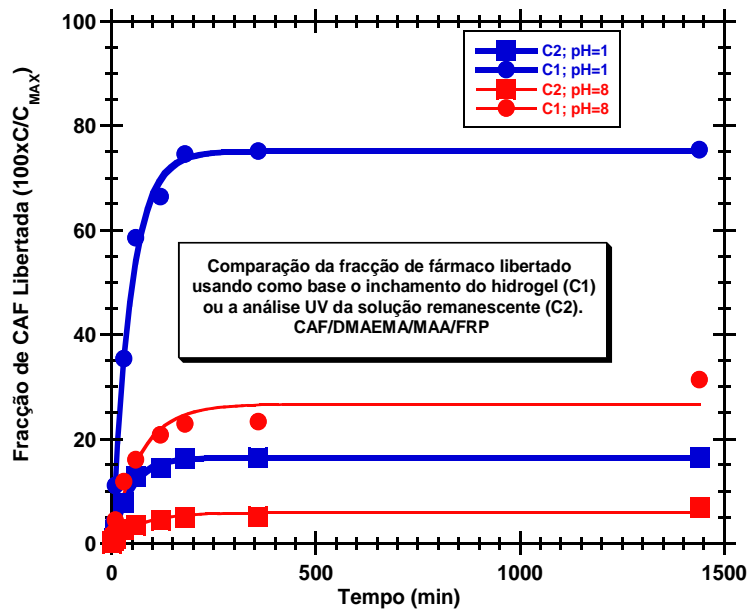
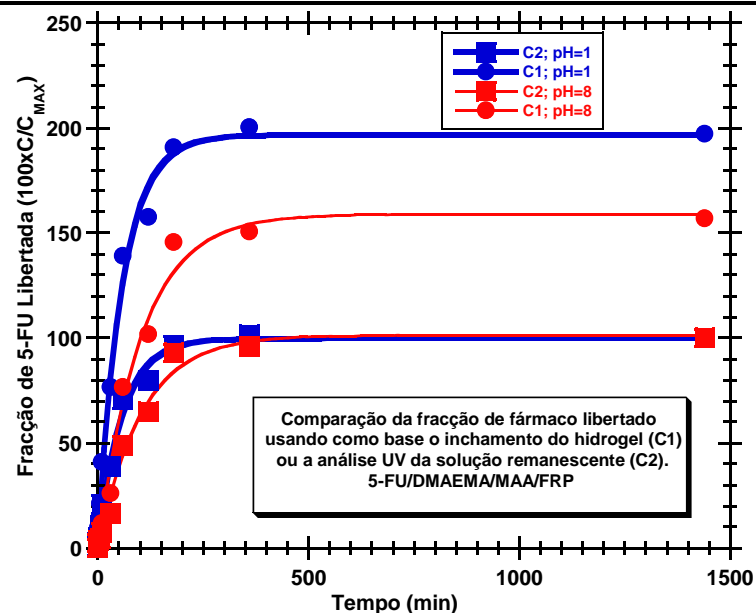
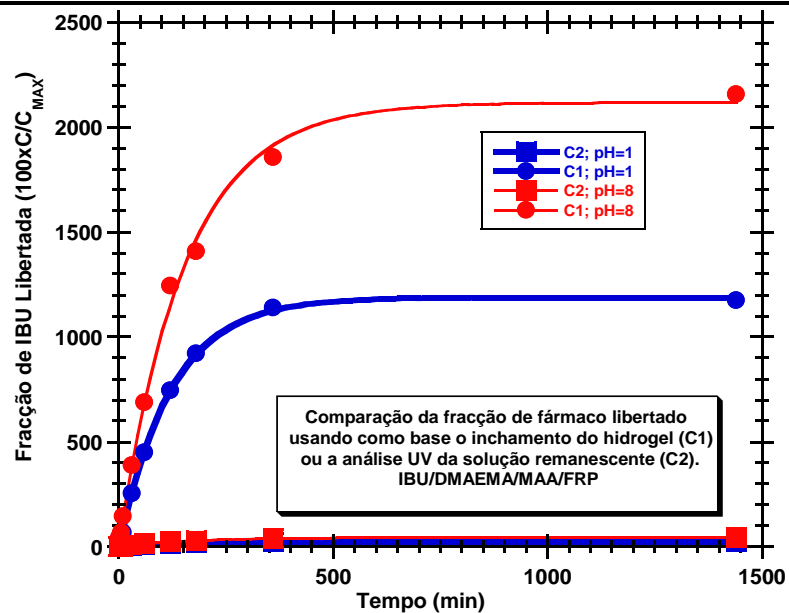
**Anexo U:** Resultados dos testes de liberação realizados com INH num hidrogel de DMAEMA\_MAA\_RAFT (HGS7) (condições de síntese na Tabela 3 e condições de incubação na Tabela 6).



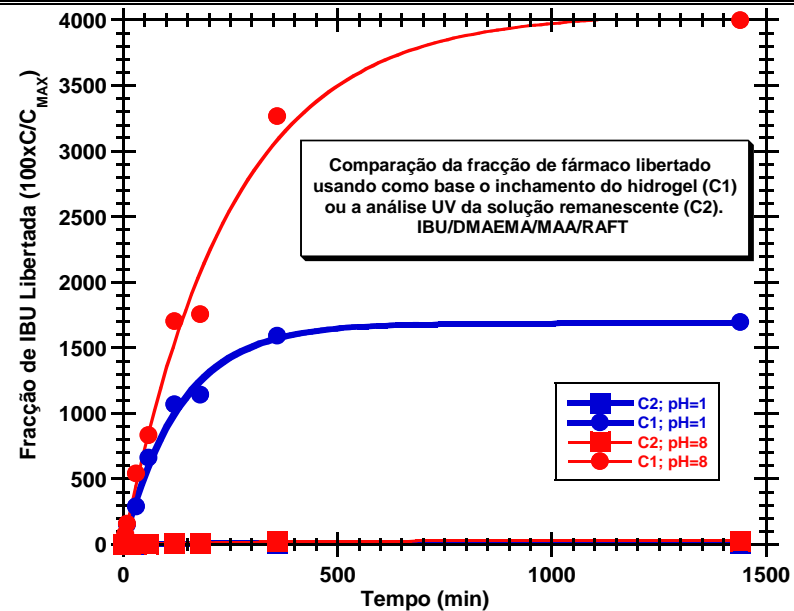
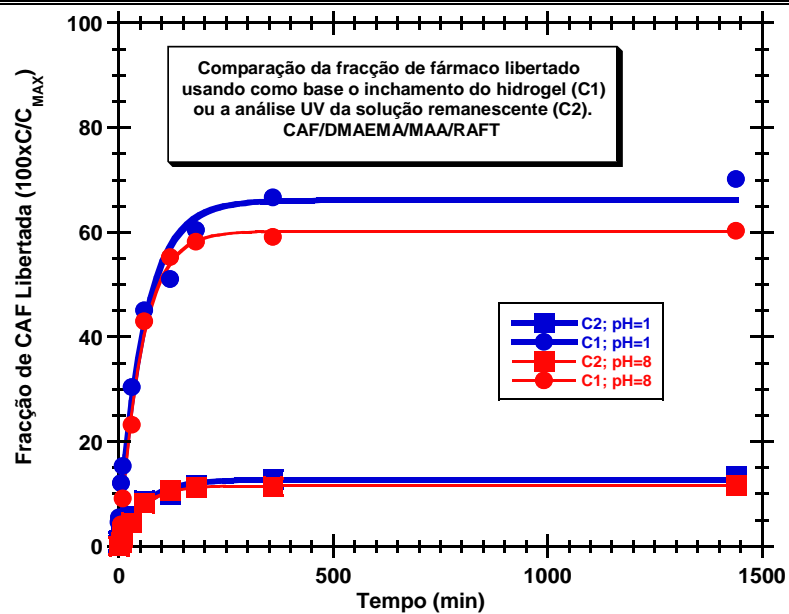
Anexo V: Resultados dos testes de liberação realizados em condições de síntese da Tabela 3 e condições de incubação da Tabela 5.



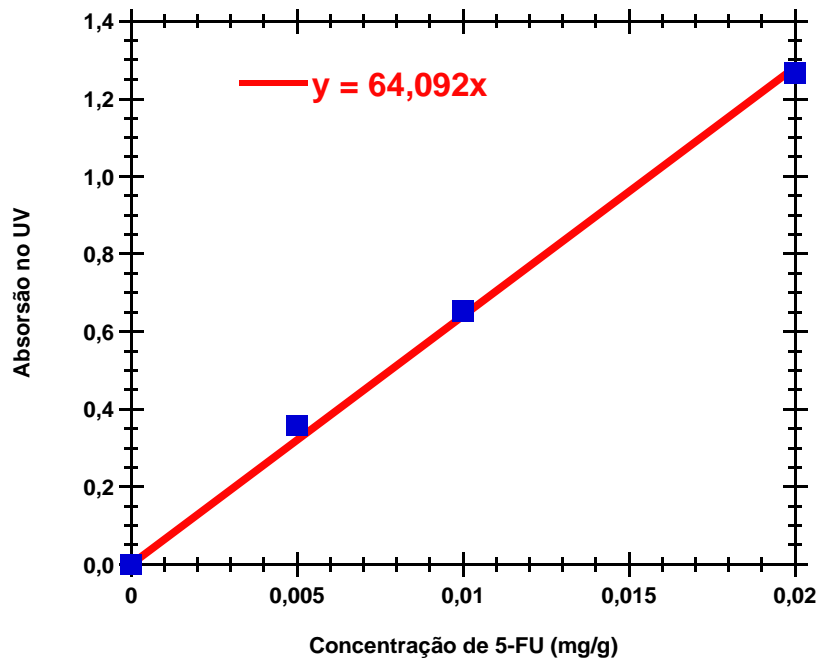
Anexo W: Resultados dos testes de liberação realizados em condições de síntese da Tabela 3 e condições de incubação da Tabela 5.



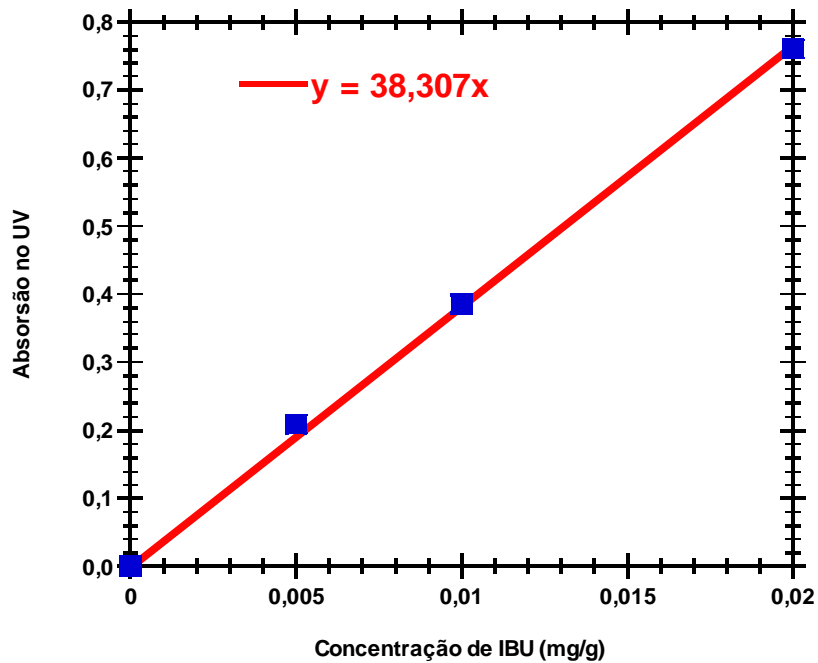
Anexo X: Resultados dos testes de libertação realizados em condições de síntese da Tabela 3 e condições de incubação da Tabela 5.



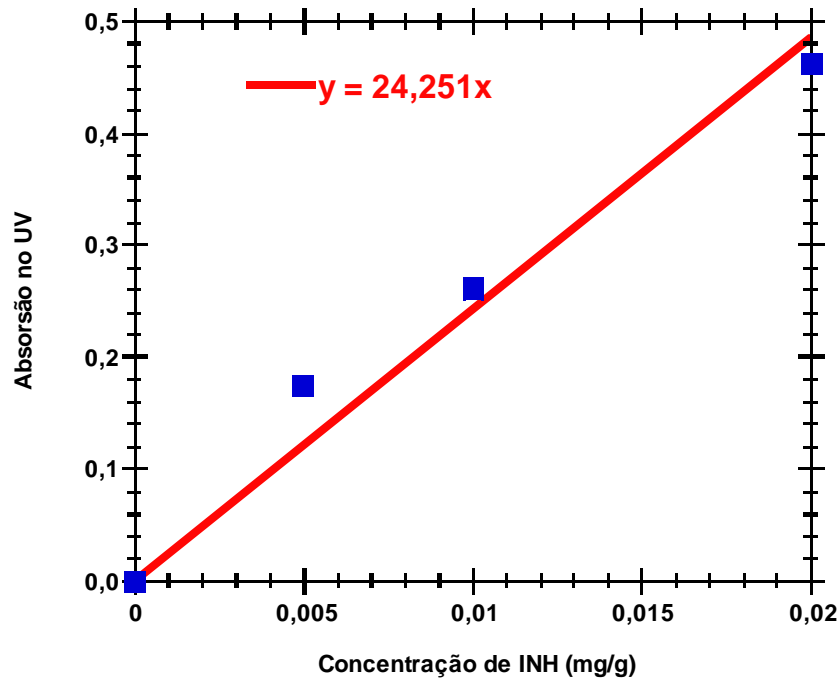
**Anexo Y:** Curva de calibração do 5-Fluoruracilo obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) em modo fechado e usando comprimento de onda  $\lambda=265$  nm.



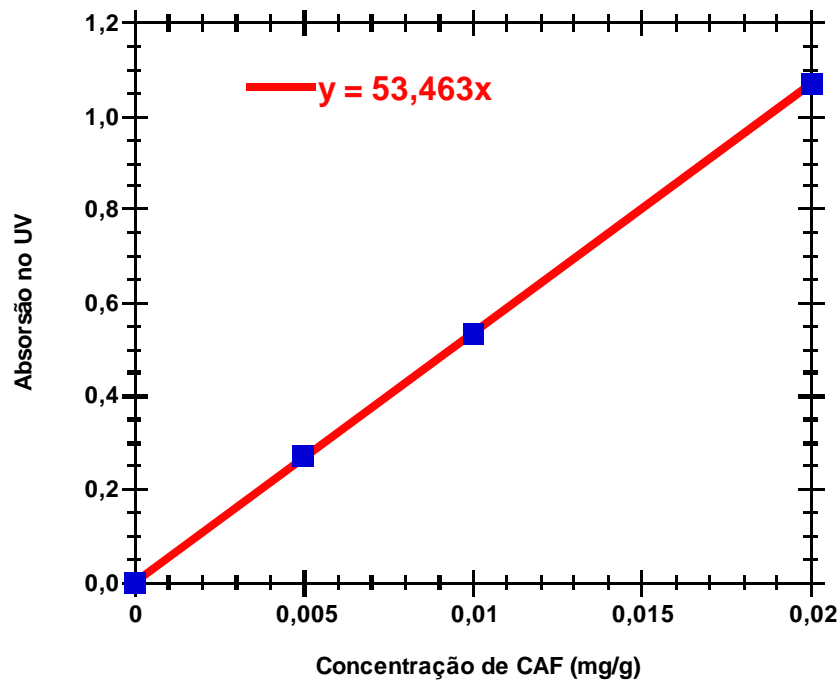
**Anexo Z:** Curva de calibração do Ibuprofeno obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) em modo fechado e usando comprimento de onda  $\lambda=223$  nm.



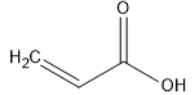
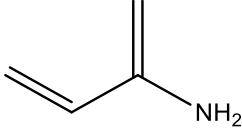
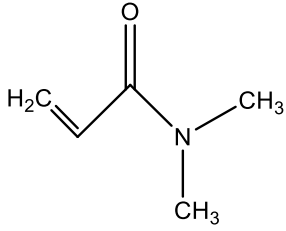
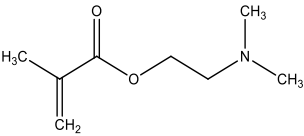
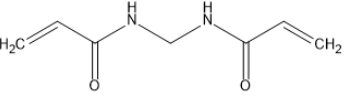
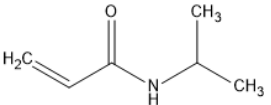
**Anexo AA:** Curva de calibração do Isoniazida obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) em modo fechado e usando comprimento de onda  $\lambda=245$  nm.



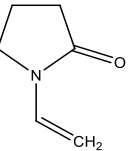
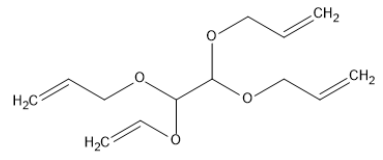
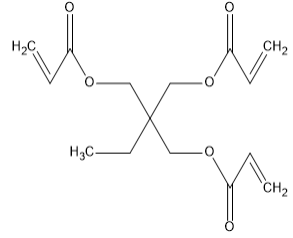
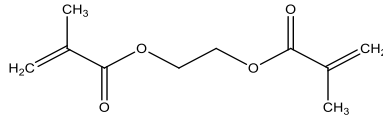
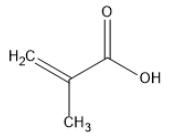
**Anexo BB:** Curva de calibração do Cafína obtida por espectroscopia de ultravioleta (UV) em modo fechado e usando comprimento de onda  $\lambda=272$  nm.



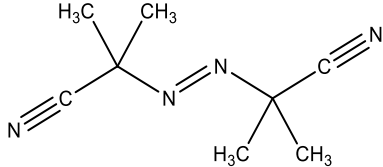
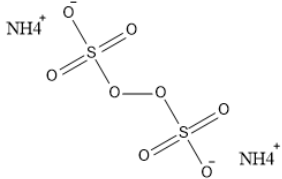
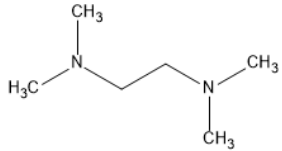
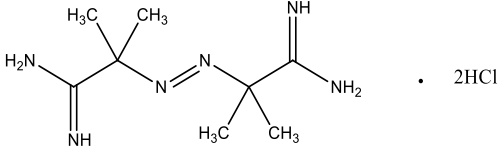
**Tabela 7:** Estruturas químicas e propriedades de monómeros vinílicos e reticulantes usados na síntese de hidrogéis.

Monómeros e Reticulantes	Fórmula Química	Estrutura Química	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Massa Molecular (g/mol)	Densidade Relativa (g/cm <sup>3</sup> ) (a 25 °C)
AA	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>		139	-	72,06	1,05
AAm	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NO		-	81-87	71,08	-
DMA	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO		80-81	-	99,13	0,96
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	-
NIPA	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO		89 - 92	60 - 63	113,16	-

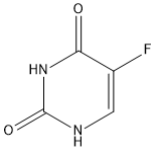
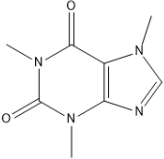
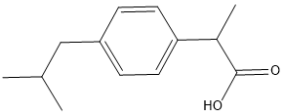
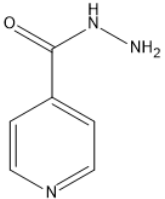
**Tabela 8:** Estruturas químicas e propriedades de monómeros vinílicos e reticulantes usados na síntese de hidrogéis (continuação.)

Monómeros e Reticulantes	Fórmula Química	Estrutura Química	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Massa Molecular (g/mol)	Densidade Relativa (g/cm <sup>3</sup> ) (a 25 °C)
NVP	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> NO		92 - 95	-	111,14	1,04
TAO	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>		155 - 160	-	-	1,00
TMPTA	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>		-	-	296,32	1,10
EGDMA	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>		98 - 100	-20	198,22	1,05
MAA	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>		159-163	-	86,09	1,05

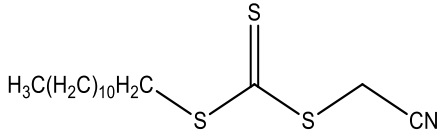
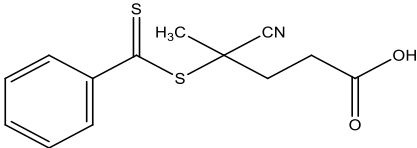
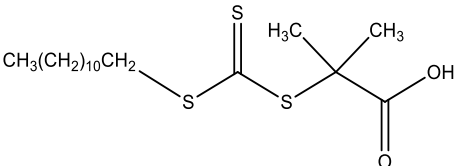
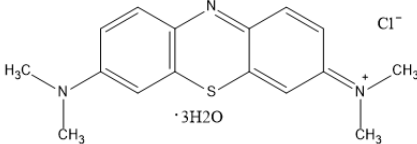
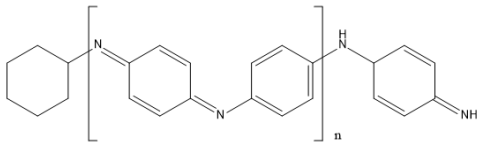
**Tabela 9:** Estruturas químicas e propriedades dos iniciadores e catalisadores usados na síntese de hidrogéis.

Agentes de Transferência e Iniciadores	Fórmula Química	Estrutura Química	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Massa Molecular (g/mol)	Densidade Relativa (g/cm <sup>3</sup> ) (a 25 °C)
AIBN	$C_8H_{12}N_4$		-	102 - 104	164,21	-
APS	$H_8N_2O_8S_2$		-	-	228,20	1,980
TEMED	$C_6H_{16}N_2$		120 - 122	-55	116,2	0,775
V <sub>50</sub>	$C_8H_{18}N_6 \cdot 2HCl$		-	175-177	271,19	-

**Tabela 10:** Estruturas químicas e propriedades dos fármacos usados nos testes de liberação controlada.

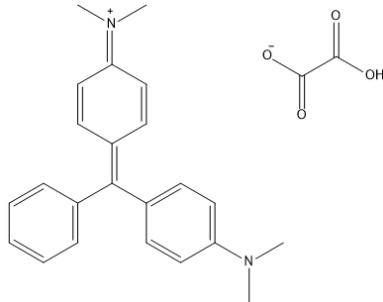
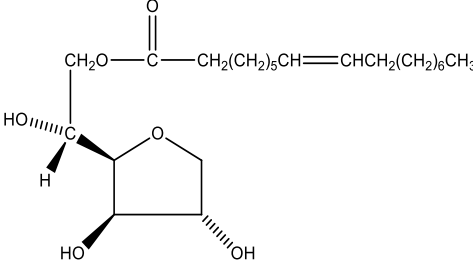
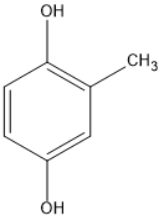
Fármacos	Fórmula Química	Estrutura Química	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Massa Molecular (g/mol)	Densidade Relativa (g/cm <sup>3</sup> )
5-FU	C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		-	282	130,07	-
Cafeína	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>		-	234 - 236,5	194,19	1,230
Ibuprofeno	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>		-	77 - 78	206,28	-
INH	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O		-	171 - 173	137,14	-

**Tabela 11:** Estruturas químicas e propriedades de reagentes utilizados.

Outros Reagentes Utilizados		Fórmula Química	Estrutura Química	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Massa Molecular (g/mol)	Densidade Relativa (g/cm <sup>3</sup> )
Agentes RAFT	CDT	C <sub>15</sub> H <sub>27</sub> NS <sub>3</sub>		-	29 - 33	317,58	-
	CPA	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub> S <sub>2</sub>		-	94 - 98	279,38	-
	DDMAT	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> S <sub>3</sub>		-	57 - 63	364,63	-
Corantes	Azul de Metileno*			-	190	373,90	-
	Nigrosina*						

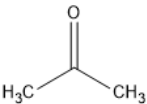
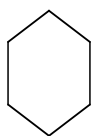
(\*) Os corantes azul de metileno e nigrosina foram usados em estudos prévios sobre difusão de moléculas para o interior dos hidrogeis.

**Tabela 12:** Estruturas químicas e propriedades de reagentes utilizados (continuação).

Outros Reagentes Utilizados		Fórmula Química	Estrutura Química	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Massa Molecular (g/mol)	Densidade Relativa (g/cm <sup>3</sup> )
Corantes	Verde Malaquita*		 <p>The image shows two chemical structures. On the left is Malachite Green, a triphenylmethane dye with a central carbon double-bonded to a quinonoid ring and single-bonded to two phenyl rings and one dimethylaminophenyl ring. On the right is Acetic Acid, a simple carboxylic acid structure.</p>				
Emulsionante	SPAN 80	C <sub>24</sub> H <sub>44</sub> O <sub>6</sub>	 <p>The image shows the chemical structure of SPAN 80, which is 1,3-bis(sn)-sn-3'-phosphatidylglycerol. It consists of a glycerol backbone with two hydroxyl groups and one phosphate group. The phosphate group is linked to a long-chain fatty acid chain with a double bond, specifically 1-octadec-7-en-3-yl.</p>	-	-	428,6	-
Inibidor	HQ	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	 <p>The image shows the chemical structure of HQ (2,4-dihydroxyacetophenone), which is a benzene ring with hydroxyl groups at the 2 and 4 positions and an acetyl group at the 1 position.</p>	-	128 - 130	124,14	-

(\*) O corante verde malaquita foi usado em estudos prévios sobre difusão de moléculas para o interior dos hidrogéis.

**Tabela 13:** Estruturas químicas e propriedades de reagentes utilizados (continuação).

<b>Outros Reagentes Utilizados</b>	<b>Fórmula Química</b>	<b>Estrutura Química</b>	<b>Ponto de Ebulição (°C)</b>	<b>Ponto de Fusão (°C)</b>	<b>Massa Molecular (g/mol)</b>	<b>Densidade Relativa (g/cm<sup>3</sup>)</b>
Acetona	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O		56	-94	58,08	0,791
CH	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>		80,7	-	84,16	0,779

**Tabela 14:** Libertação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. Parâmetros relativos ao ajuste dos dados experimentais aos modelos exponencial e de potência. Quantidade libertada de fármaco (mg fármaco/g hidrogel) usada como variável dependente.

Teste	Modelo	Estímulo	Parâmetros			
			a1	a2	a3	R
1	Exponencial	T=22 °C	0,82638	1,8928	0,1214	0,90816
		T=37 °C	0,78333	1,3239	0,24368	0,80042
	Potência	T=22 °C	1,1308	0,20468	-	0,83094
		T=37 °C	1,1021	0,15953	-	0,75985
2	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	44,029	143,78	77,686	0,55179
		T=37 °C e pH=1,2	103,11	106,3	5,3288	0,5712
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	132,91	0,093629	-	0,82254
		T=37 °C e pH=1,2	186,24	0,045582	-	0,87573
3	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	121.25	79.327	0.018385	0.94385
		T=37 °C e pH=1,2	41.088	183.43	1.2851	0.99009
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	121.16	0.088581	-	0.96632
		T=37 °C e pH=1,2	144.59	0.11535	-	0.81377
4	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	55,245	146,1	0,12373	0,92235
		T=37 °C e pH=1,2	12,437	31,003	0,31732	0,98396
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	74,109	0,23519	-	0,87962
		T=37 °C e pH=1,2	21,392	0,17661	-	0,88178

**Tabela 15:** Libertação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. Parâmetros relativos ao ajuste dos dados experimentais aos modelos exponencial e de potência. Quantidade libertada de fármaco (mg fármaco/g hidrogel) usada como variável dependente (continuação).

Teste	Modelo	Estímulo	Parâmetros			
			a1	a2	a3	R
5	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	72,886	149,93	0,10667	0,95155
		T=37 °C e pH=1,2	74,691	177,76	0,22936	0,9767
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	96,845	0,1872	-	0,9165
		T=37 °C e pH=1,2	118,72	0,18119	-	0,86997
6	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	34,838	98,102	0.042673	0,94305
		T=37 °C e pH=1,2	35,614	104.05	0.4236	0.94825
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	41,203	0,23726	-	0,91664
		T=37 °C e pH=1,2	69,824	0,16951	-	0,76237
7	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	46,518	42,981	0,20538	0,86979
		T=37 °C e pH=1,2	52,136	43,374	0,56819	0,73238
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	56,216	0,11275	-	0,9177
		T=37 °C e pH=1,2	68,497	0,08255	-	0,65782
8	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	91,746	60,734	0,0076316	0,73227
		T=37 °C e pH=1,2	10,451	142,83	0,98712	0,64203
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	93,688	0,045181	-	0,53776
		T=37 °C e pH=1,2	62,283	0,23609	-	0,76444

**Tabela 16:** Liberação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. Parâmetros relativos ao ajuste dos dados experimentais aos modelos exponencial e de potência. Quantidade libertada de fármaco (mg fármaco/g hidrogel) usada como variável dependente (continuação).

Teste	Modelo	Estímulo	Parâmetros			
			a1	a2	a3	R
9	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	201,45	41,913	0,21832	0,55943
		T=37 °C e pH=1,2	-609,66	904,26	7,9592	0,67074
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	201,3	0,031507	-	0,51852
		T=37 °C e pH=1,2	252,45	0,03528	-	0,3261
10	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	33,151	69,335	0,061938	0,91549
		T=37 °C e pH=1,2	24,2	4673,1	9,9601e-5	0,97768
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	41,754	0,17596	-	0,81839
		T=37 °C e pH=1,2	27,079	0,16188	-	0,78204

**Tabela 17:** Libertação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. Parâmetros relativos ao ajuste dos dados experimentais aos modelos exponencial e de potência. Concentração normalizada de fármaco usada como variável dependente.

Teste	Modelo	Estímulo	Parâmetros			
			a1	a2	a3	R
1	Exponencial	T=22 °C	25,419	57,412	0,11841	0,90602
		T=37 °C	30,325	51,606	0,2577	0,79426
	Potência	T=22 °C	34,516	0,20383	-	0,84114
		T=37 °C	42,994	0,1594	-	0,74954
2	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	22,094	66,961	1,4705	0,92178
		T=37 °C e pH=1,2	69,059	21,94	0,30985	0,90805
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	61,672	0,098674	-	0,85228
		T=37 °C e pH=1,2	76,327	0,043106	-	0,8671
3	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	60,863	39,61	0.017479	0,9347
		T=37 °C e pH=1,2	19,199	75,237	1.2083	0,98887
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	60,566	0,08822	-	0,96097
		T=37 °C e pH=1,2	60,556	0,11649	-	0,82431
4	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	23,044	55,426	0,11012	0,89901
		T=37 °C e pH=1,2	26,914	64,87	0,28672	0,98703
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	28,92	0,23389	-	0,87911
		T=37 °C e pH=1,2	44,776	0,17775	-	0,88721

**Tabela 18:** Libertação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. Parâmetros relativos ao ajuste dos dados experimentais aos modelos exponencial e de potência. Concentração normalizada de fármaco usada como variável dependente (continuação).

Teste	Modelo	Estímulo	Parâmetros			
			a1	a2	a3	R
5	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	28,931	62,687	0,1116	0,94692
		T=37 °C e pH=1,2	28,337	60,701	0,17866	0,95739
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	39,445	0,18902	-	0,90356
		T=37 °C e pH=1,2	41,053	0,1833	-	0,89099
6	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	22,909	68,378	0,03946	0,94481
		T=37 °C e pH=1,2	23,584	65,421	655,86	0,94341
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	27,019	0,24524	-	0,92714
		T=37 °C e pH=1,2	44,303	0,16961	-	0,75629
7	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	47,281	41,669	0,16354	0,85602
		T=37 °C e pH=1,2	45,619	37,585	0,58309	0,70501
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	55,541	0,11147	-	0,91093
		T=37 °C e pH=1,2	59,342	0,084797	-	0,64944
8	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	63,068	38,338	0,010269	0,71509
		T=37 °C e pH=1,2	6,2765	50,559	0,9196	0,62596
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	64,6	0,048256	-	0,54035
		T=37 °C e pH=1,2	22,983	0,23731	-	0,75638

**Tabela 19:** Liberação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa. Parâmetros relativos ao ajuste dos dados experimentais aos modelos exponencial e de potência. Concentração normalizada de fármaco usada como variável dependente (continuação).

Teste	Modelo	Estímulo	Parâmetros			
			a1	a2	a3	R
9	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	76,487	18,36	0,10614	0,66214
		T=37 °C e pH=1,2	-67,163	153,57	5,483	0,72128
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	79,935	0,03555	-	0,59447
		T=37 °C e pH=1,2	72,46	0,039551	-	0,33965
10	Exponencial	T=22 °C e pH=7,5	29,744	60,919	0,061501	0,9131
		T=37 °C e pH=1,2	20,613	5356,7	7,7298e-5	0,97599
	Potência	T=22 °C e pH=7,5	37,312	0,17396	-	0,81149
		T=37 °C e pH=1,2	23,426	0,16436	-	0,7761

**Tabela 20:** Libertação de fármacos a partir de hidrogéis sintetizados em solução. Parâmetros relativos ao ajuste dos dados experimentais ao modelo exponencial.

Teste	Modelo	Estímulo	Parâmetros			
			a1	a2	a3	R
5-FU em AA	Exponencial	pH=1	7,7532	53,505	0,058919	0,98994
		pH=10	3,2306	68,955	0,002006	0,99719
5-FU em AA	Exponencial	pH=1	4,798	28,73	0,089679	0,917166
		pH=10	4,5934	32,495	0,26712	0,99507
5-FU em DMAEMA/MAA/FRP	Exponencial	pH=1	0,38991	18,409	0,017225	0,99701
		pH=8	-0,051597	15,241	0,009767	0,99392
5-FU em DMAEMA/MAA/RAFT	Exponencial	pH=1	0,10733	15,07	0,010539	0,99789
		pH=8	0,28466	12,289	0,0050037	0,99307
5-FU em DMAEMA	Exponencial	pH=1	1,9307	155,84	0,028765	0,99481
		pH=10	1,3021	175,12	0,018133	0,99927
5-FU em DMAEMA	Exponencial	pH=1	5,7868	121,14	0,018079	0,97862
		pH=10	5,4482	75,869	0,011127	0,99189
5-FU em NIPA	Exponencial	T=25 °C	0,017775	18,266	0,010288	0,99862
		T=37 °C	7,7532	53,505	0,058919	0,98994
CAF em DMAEMA/MAA/FRP	Exponencial	pH=1	-0,33521	16,704	0,022065	0,99828
		pH=8	0,11184	5,6967	0,01475	0,98456
CAF em DMAEMA/MAA/RAFT	Exponencial	pH=1	0,75677	11,954	0,016289	0,99314
		pH=8	-0,18267	11,757	0,019198	0,99899
IBU em DMAEMA/MAA/FRP	Exponencial	pH=1	-0,064594	24,057	0,0081943	0,99973
		pH=8	0,23436	42,516	0,0064916	0,99872
IBU em DMAEMA/MAA/RAFT	Exponencial	pH=1	-0,044886	11,494	0,0074919	0,99743
		pH=8	0,0087684	27,459	0,0039927	0,99594
INH em AA/RAFT	Exponencial	pH=1	14,424	50,293	0,025453	0,92322
		pH=10	5,6664	33,976	0,04527	0,95086
INH em DMAEMA/MAA/FRP	Exponencial	pH=1	7,8514	200,55	0,014159	0,99592
		pH=8	4,7982	216,5	0,016406	0,99635
INH em DMAEMA/MAA/RAFT	Exponencial	pH=1	40,835	342,58	0,0054988	0,9796
		pH=8	11,422	340,59	0,011412	0,99387
INH em DMAEMA/RAFT	Exponencial	pH=1	6,3043	90,608	0,028838	0,99725
		pH=10	5,4408	34,669	0,025928	0,98236



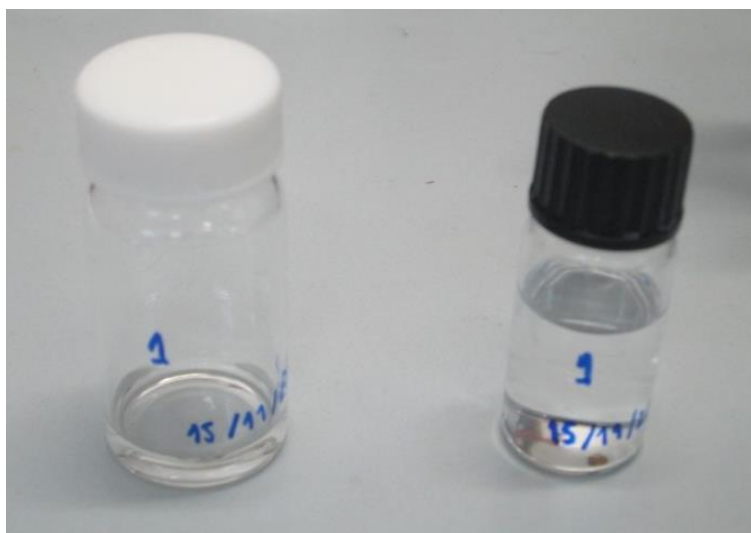
**Figura 129:** Ilustração da balança de precisão utilizada ao longo dos procedimentos experimentais deste trabalho. A pesagem rigorosa de todos os componentes utilizados na síntese dos hidrogéis e no processo de incubação e liberação de fármacos reveste-se de fundamental importância.



**Figura 130:** Ilustração do processo de pesagem de hidroquinona antes de iniciar a síntese de hidrogéis por suspensão inversa ou em solução. A preparação de soluções contendo hidroquinona antes de iniciar a síntese de hidrogéis por suspensão inversa ou em solução. A preparação de soluções contendo hidroquinona (inibidor de polimerizações radiculares) foi feita de modo a parar a reação a diferentes tempos de amostragem.



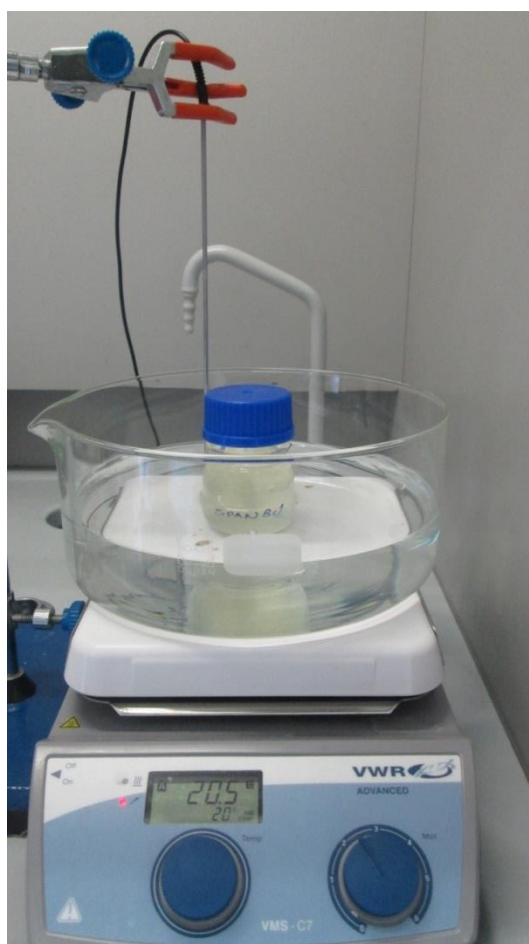
**Figura 131:** Ilustração do processo de recolha de metanol para utilização posterior na precipitação de hidrogéis sintetizados por suspensão inversa ou em solução.



**Figura 132:** Visualização de frascos de amostragem contendo misturas HQ/metanol e HQ/acetona para realização de análise gravimétrica e análise por SEC dos produtos de polimerização. Este processo de recolha de amostras ao longo do processo de síntese de hidrogéis foi realizado nos sistemas de polimerização por suspensão inversa e também nas reações em solução.



**Figura 133:** Ilustração do processo de borbulhamento do monómero com árgon previamente ao processo de polimerização. Desta forma, realiza-se a remoção de  $O_2$  (que funciona como inibidor) do meio de polimerização. Este processo é também realizado durante a polimerização de forma a manter o meio reacional isento de  $O_2$ .



**Figura 134:** Ilustração de recipiente contendo o emulsionante (SPAN 80) utilizado na síntese de hidrogéis por suspensão inversa. Antes da realização das polimerizações, todos os componentes foram termostatizados no valor de temperatura desejado (ex.  $T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).



**Figura 135:** Amostragem para análise por SEC realizada ao longo da síntese de hidrogéis por suspensão inversa.



**Figura 136:** Ilustração de vários componentes usados no processo iniciação relativo à síntese a baixa temperatura ( $T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) de hidrogéis em suspensão inversa ou em solução: catalisador da polimerização (TEMED), iniciador da fase aquosa (APS) e água desionizada ( $W_{DI}$ ).



**Figura 137:** Ilustração de um balão volumétrico contendo ciclohexano usado no decorrer da síntese de hidrogéis em suspensão inversa. Neste processo de síntese, com o objetivo de realizar polimerização nas gotas de fase aquosa (síntese de partículas de hidrogel na fase dispersa), foram usados solventes orgânicos na fase contínua.



**Figura 138:** Estufa de vácuo usada no processo de secagem e incubação de hidrogéis.



**Figura 139:** Exemplo de aspeto morfológico de um hidrogel após ter sido retirado da estufa de vácuo (HG17 considerado nesta ilustração).

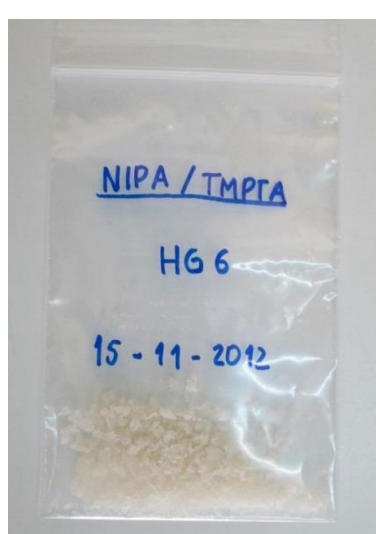
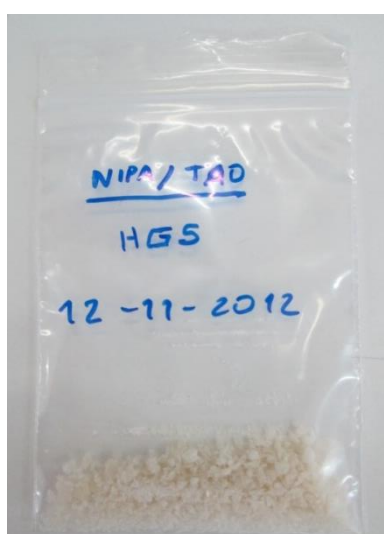
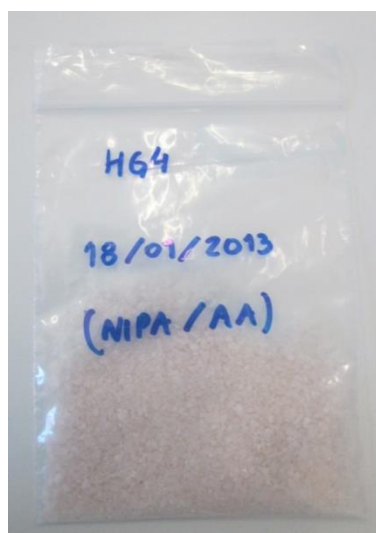
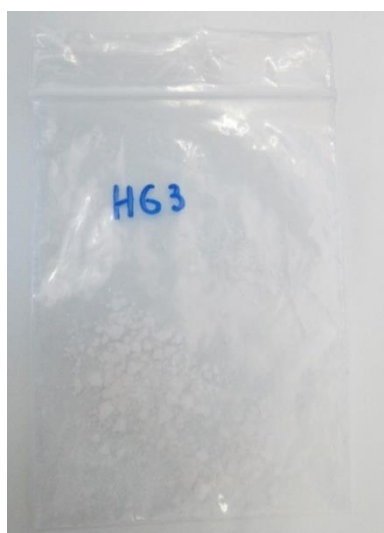
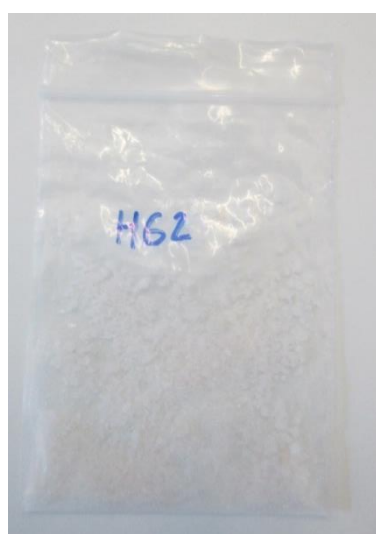
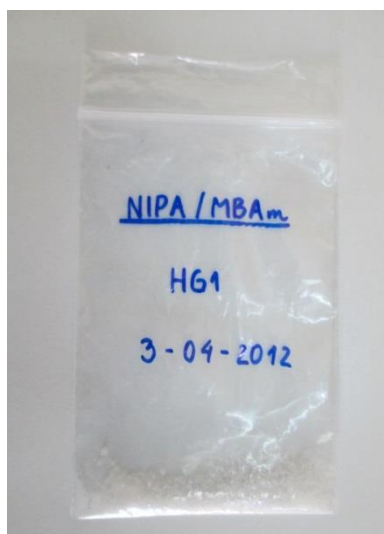


**Figura 140:** Exemplo do processo de trituração dos hidrogéis sintetizados (HG17 considerado nesta ilustração).

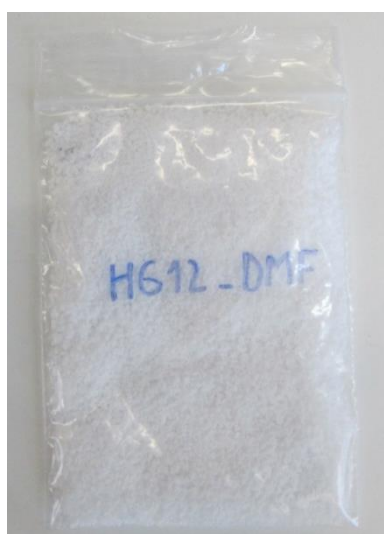
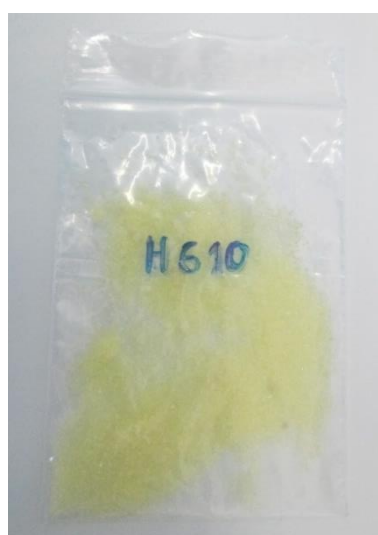
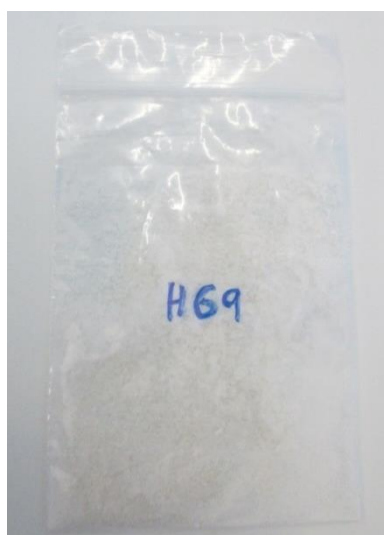
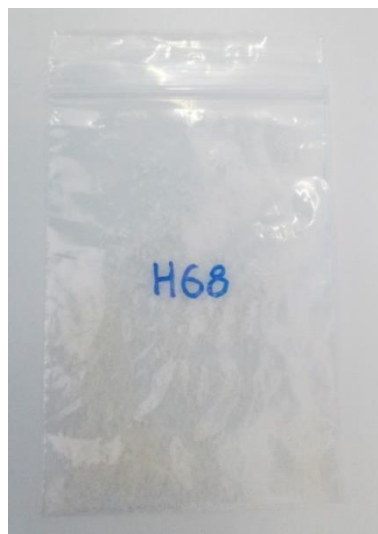
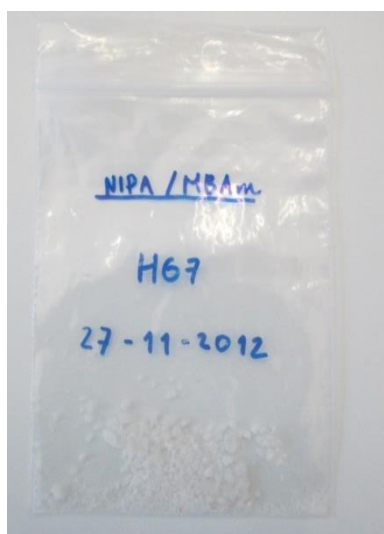


**Figura 141:** Ilustração da dissolução de fármaco em água desionizada com recurso ao sistema de ultrassons. Alguns fármacos utilizados apresentam baixa solubilidade em água, especialmente o ibuprofeno. A geração de um sal de ibuprofeno (ex. sal de sódio por reação com NaOH) é uma das formas de contornar esta dificuldade.

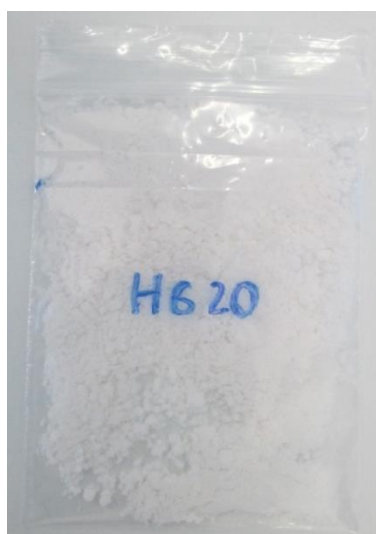
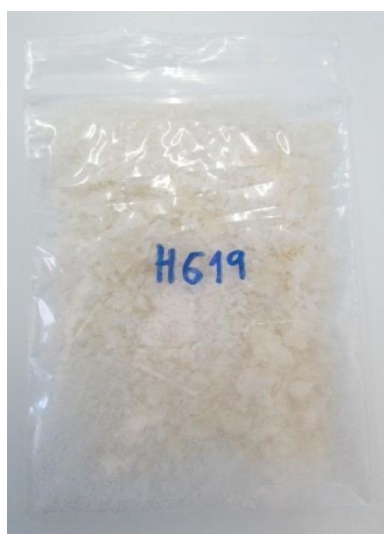
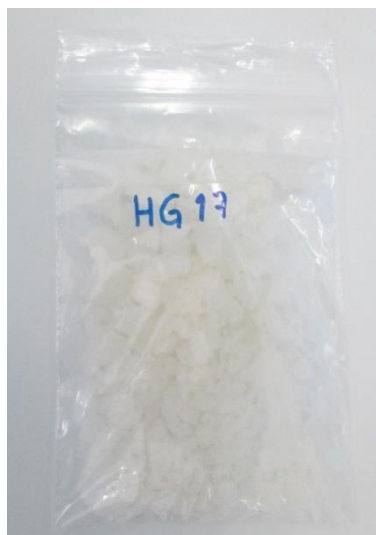
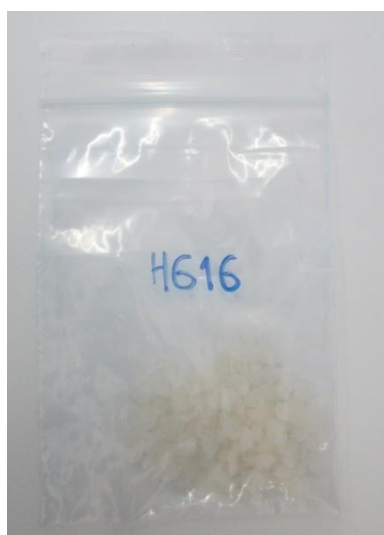
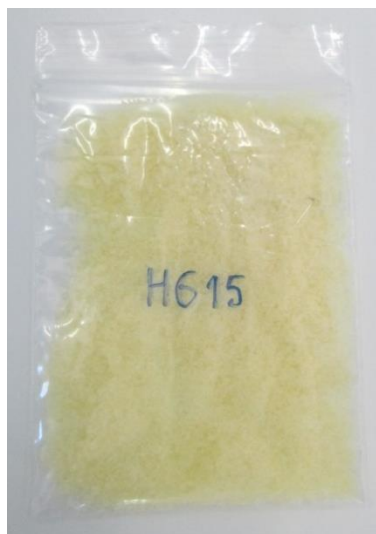
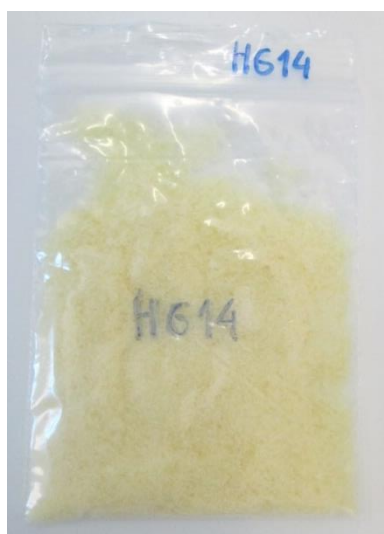
**Tabela 21:** Aspeto morfológico de alguns hidrogéis utilizados neste trabalho: HG1, HG2, HG3, HG4, HG5 e HG6 considerados como exemplos.



**Tabela 22:** Aspeto morfológico de alguns hidrogéis utilizados neste trabalho: HG7, HG8, HG9, HG10, HG12 e HG13 considerados como exemplos.

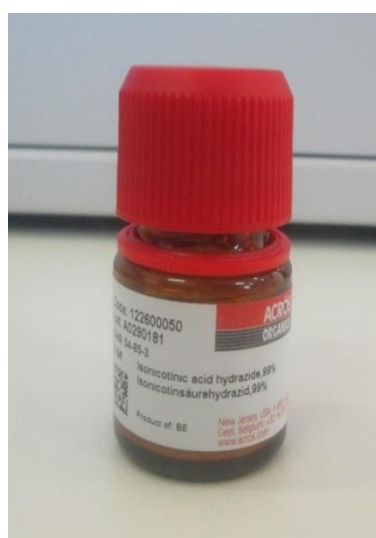
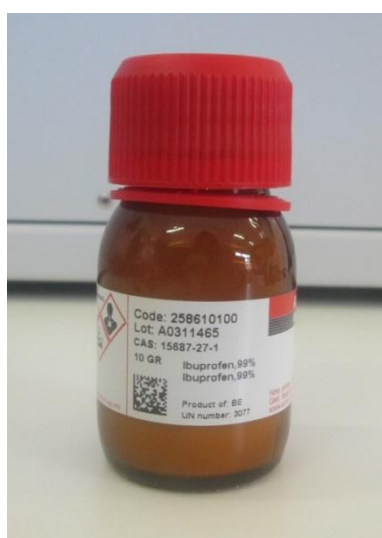
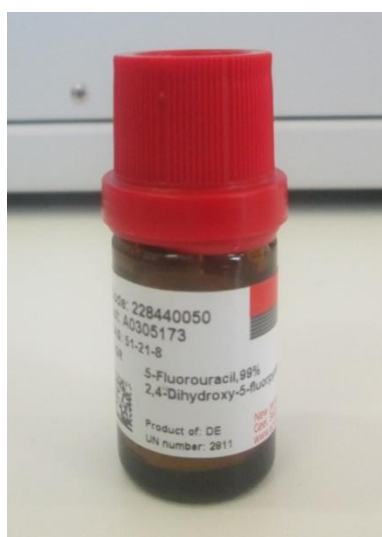


**Tabela 23:** Aspeto morfológico de alguns hidrogéis utilizados neste trabalho: HG14, HG15, HG16, HG17, HG19 e HG20 considerados como exemplos.





**Figura 142:** Ilustração do aspeto morfológico de alguns dos hidrogéis sintetizados a partir de polimerização em solução.



**Figura 143:** Ilustração fotográfica dos fármacos usados neste trabalho: 5-FU, Cafeina, IBU e INH. Produtos adquiridos à Sigma Aldrich.



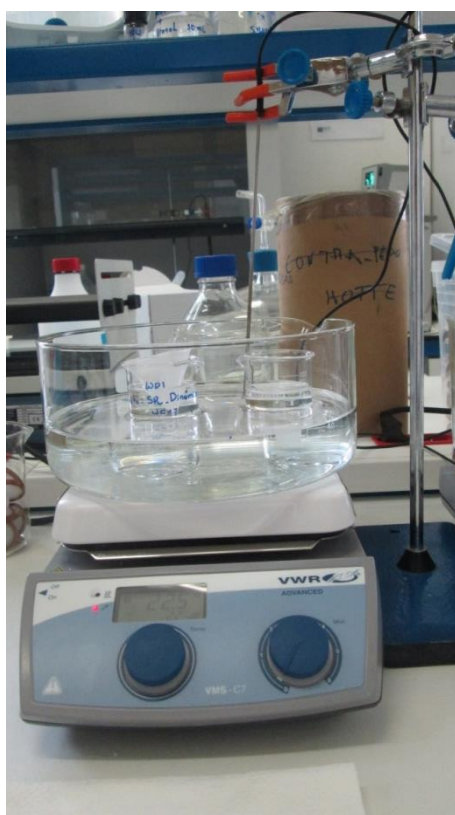
**Figura 144:** Ilustração do teste de sensibilidade equilíbrio dos hidrogéis à variação simultânea do pH e da temperatura.



**Figura 145:** Teste de sensibilidade equilíbrio dos hidrogéis à variação do pH a temperatura constante ( $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Nestes testes fez-se uso de soluções tampão com valores compreendidos de 1 a 14 (soluções ácidas, neutras e básicas).



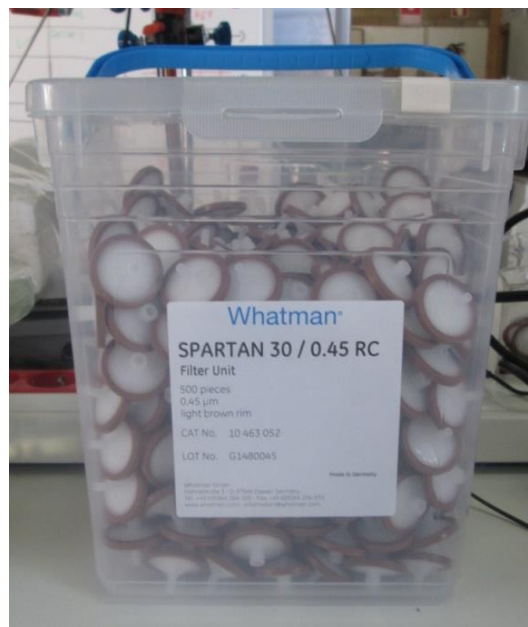
**Figura 146:** Ilustração do teste de sensibilidade de equilíbrio dos hidrogéis à variação do pH a temperatura constante ( $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Nestes testes fez-se uso de soluções tampão com valores compreendidos de 1 a 14 (soluções ácidas, neutras e básicas).



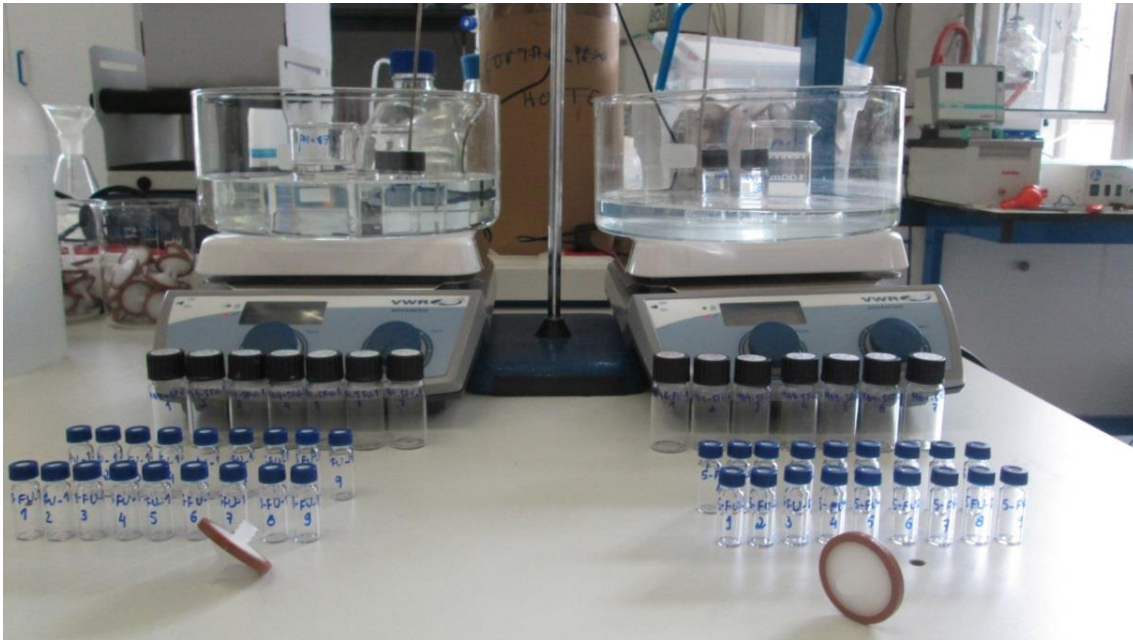
**Figura 147:** Ilustração do teste de inchamento em água desionizada e colapso em acetona do hidrogel HG17 (levemente catiónico).



**Figura 148:** Ilustração do processo de filtração de hidrogéis carregados com fármacos (HG4 com cafeína usado como exemplo). Após esta fase foi recolhido e colocado numa estufa de vácuo. Método de carregamento B.



**Figura 149:** Filtros utilizados nos testes de libertação controlada de fármacos. São da marca Whatman com membrana de celulose, ideais para sistemas aquosos, e com porosidade de 0,45 micron.

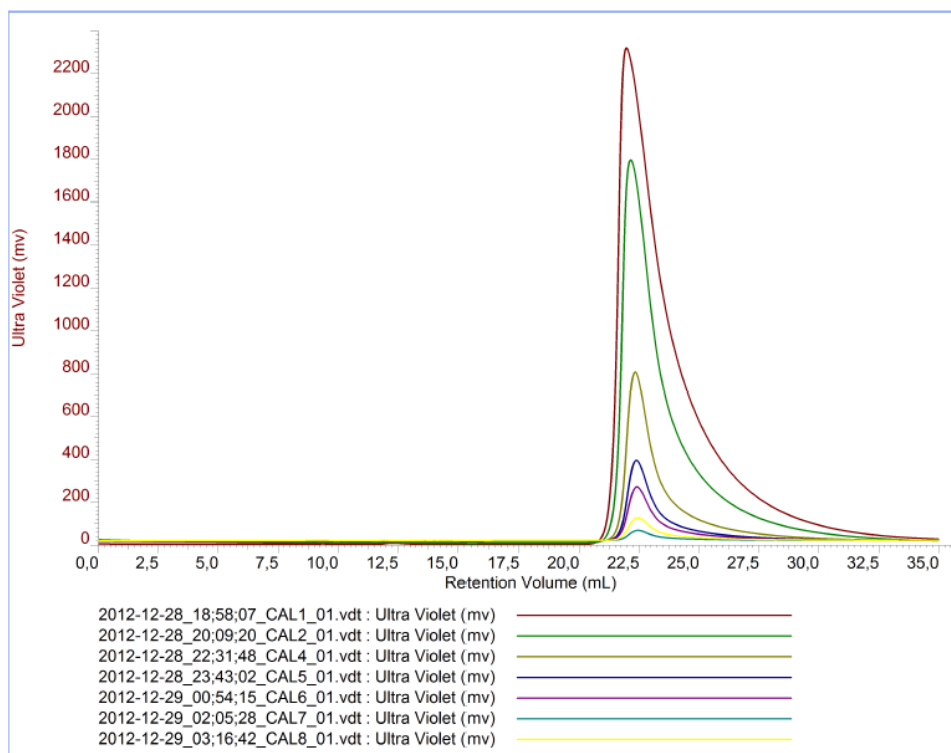


**Figura 150:** Ilustração dos testes de liberação realizados com hidrogéis sintetizados em suspensão inversa (5-FU em HG4 aqui considerado como exemplo). Nestes testes fez-se a comparação da utilização de um filtro para cada amostra da utilização de um único filtro para cada estímulo (Teste 8 da Tabela 4). Não foram detetadas diferenças significativas entre as duas abordagens.

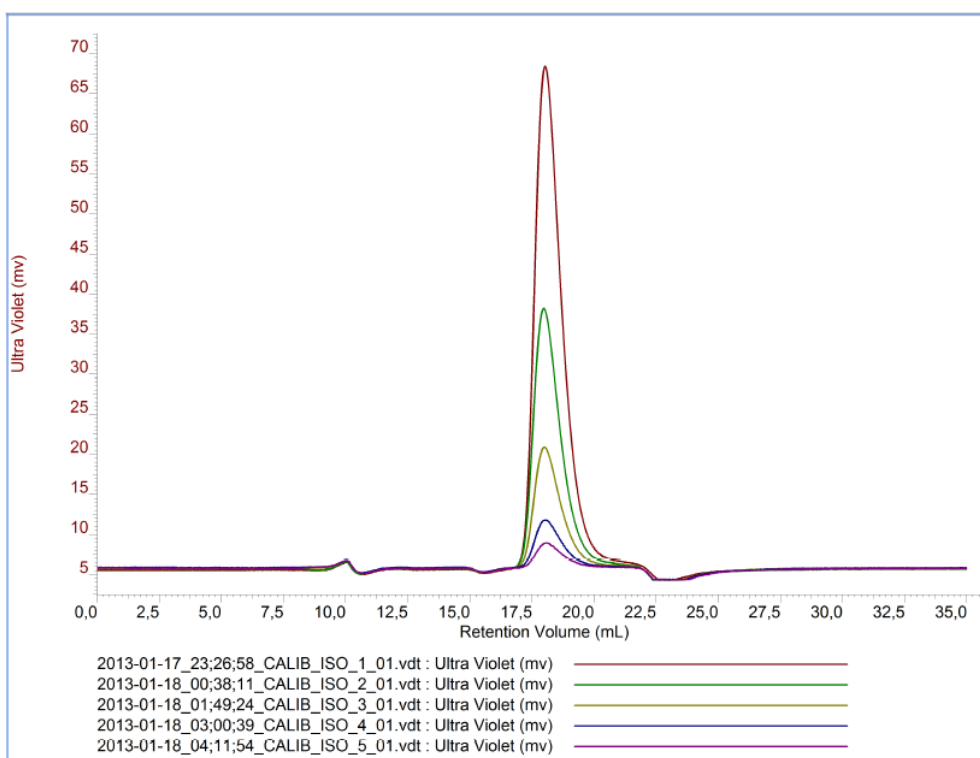


**Figura 151:** Ilustração do equipamento de GPC (deteção simultânea de quatro sinais) utilizado para a realização dos testes de liberação controlada de fármacos.

**Anexo CC:** Cromatogramas de calibrações de Fármacos efetuadas em GPC/UV para a quantificação posterior dos testes de libertação controlada de fármacos.

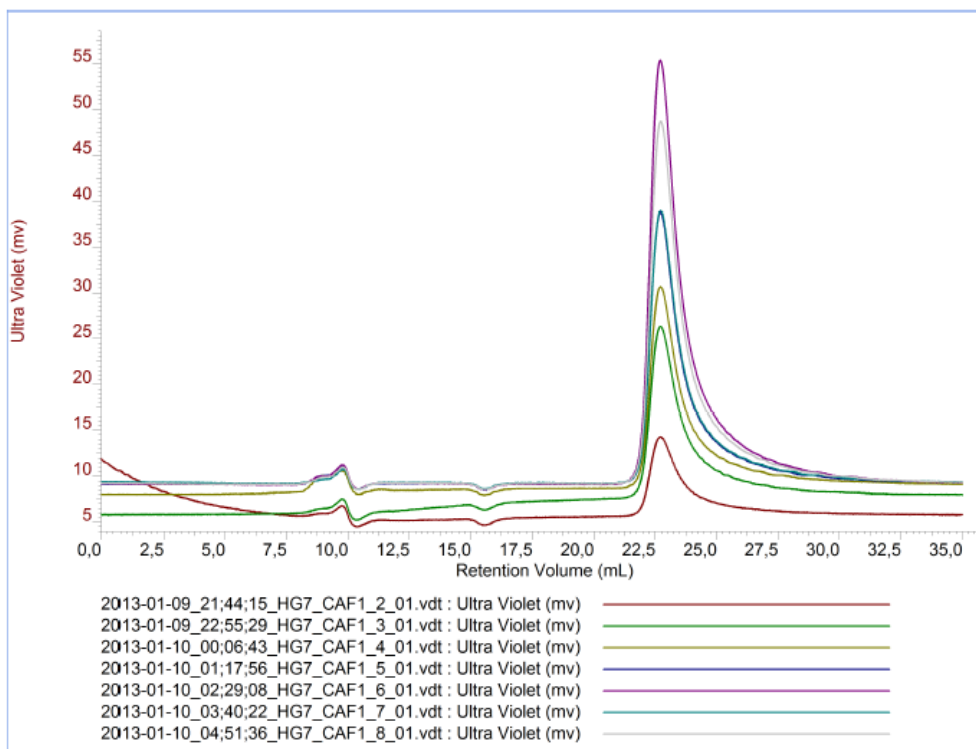


Cromatogramas correspondentes à calibração da Cafeína em GPC/UV (concentrações usadas: 2,599; 1,924; 1,126; 0,542; 0,221; 0,103; 0,024; 0,052 mg/mL). A calibração foi obtida relacionando a concentração usada com a área do respectivo cromatograma.

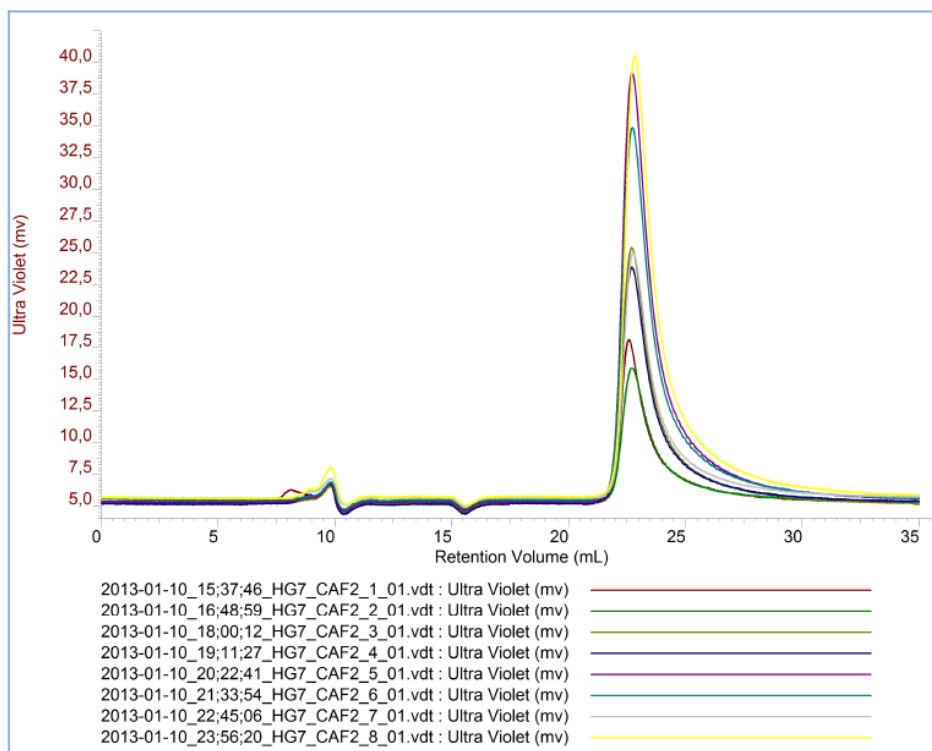


Cromatogramas correspondentes à calibração da Isoniazida em GPC/UV (concentrações usadas: 0,108; 0,0541; 0,0261; 0,0106; 0,006 mg/mL). A calibração foi obtida relacionando a concentração usada com a área do respectivo cromatograma.

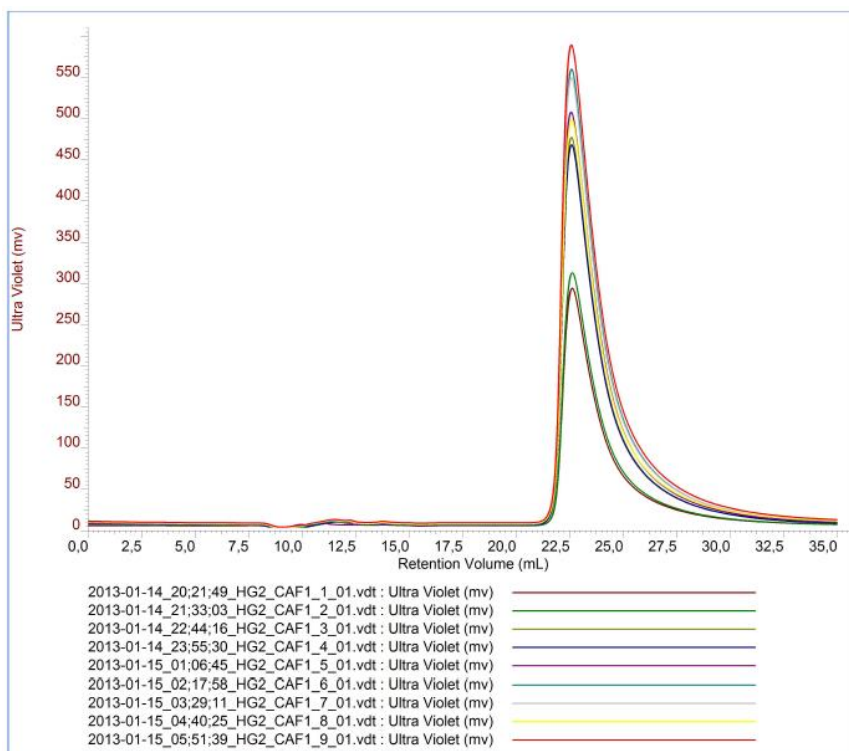
**Anexo DD:** Cromatogramas de alguns dos testes de Libertação Controlada de Fármacos realizados em GPC/UV.



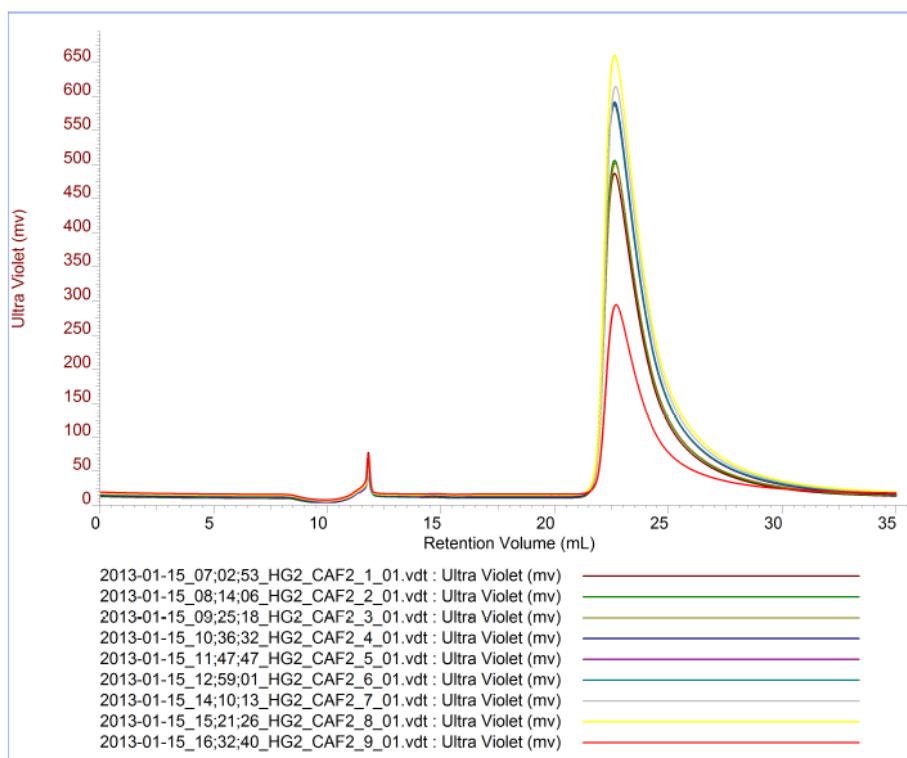
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 1 da Tabela 4 (estímulo (T=22 °C)).



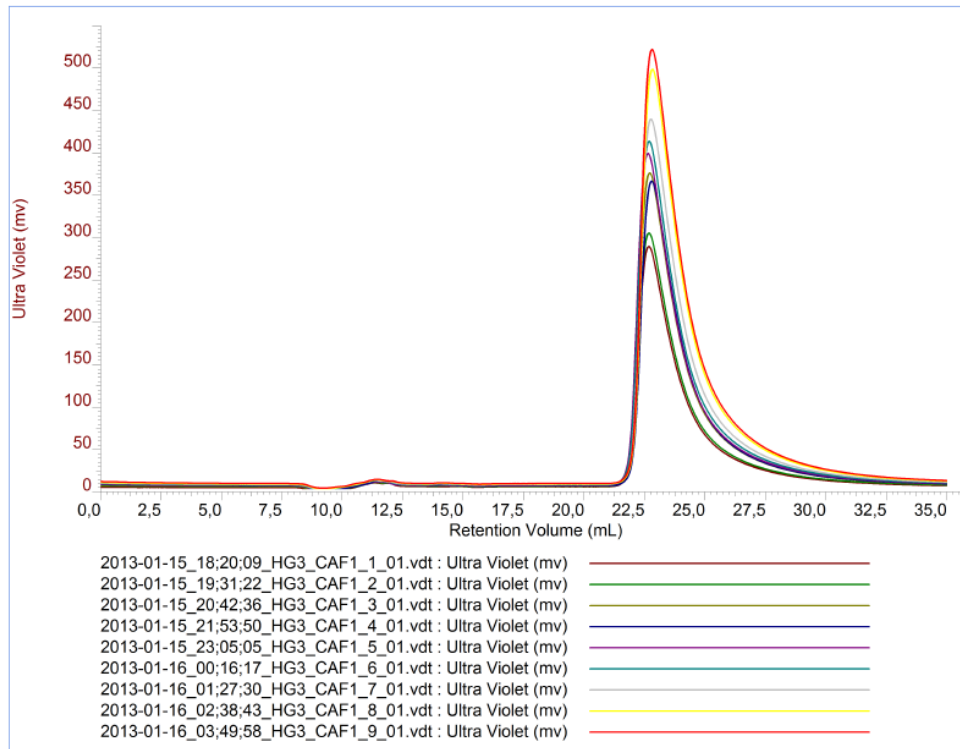
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 1 da Tabela 4 (estímulo (T=37 °C)).



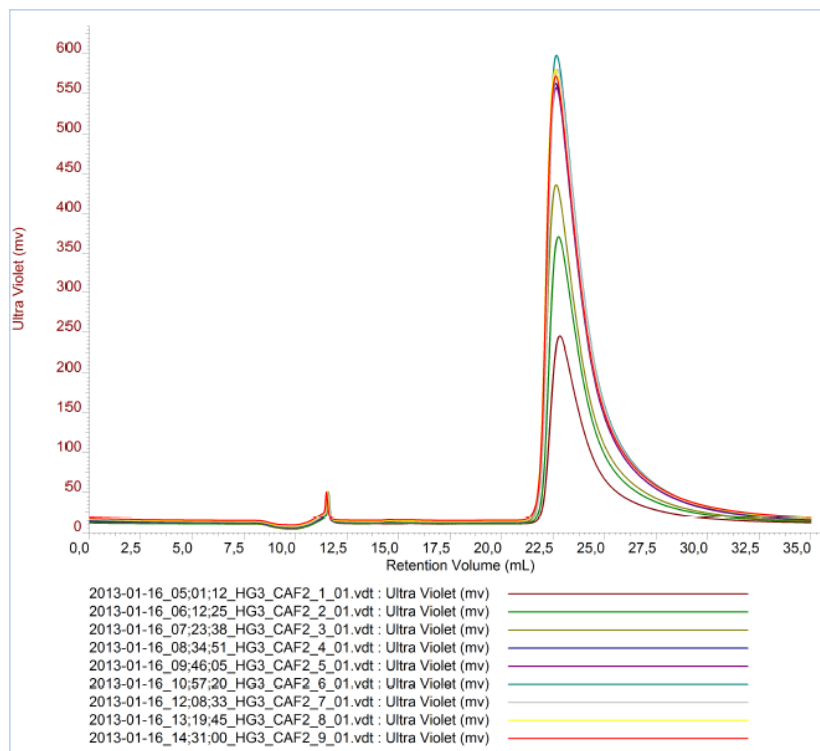
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 2 da Tabela 4 (estímulo ( $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=7,5$ )).



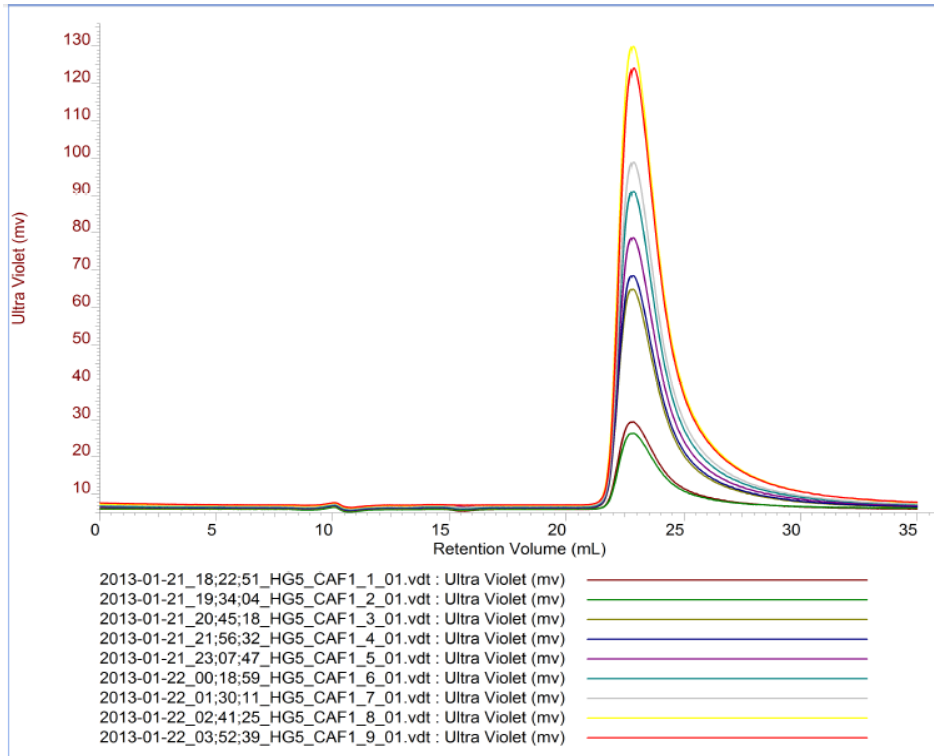
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 2 da Tabela 4 (estímulo ( $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=1,2$ )).



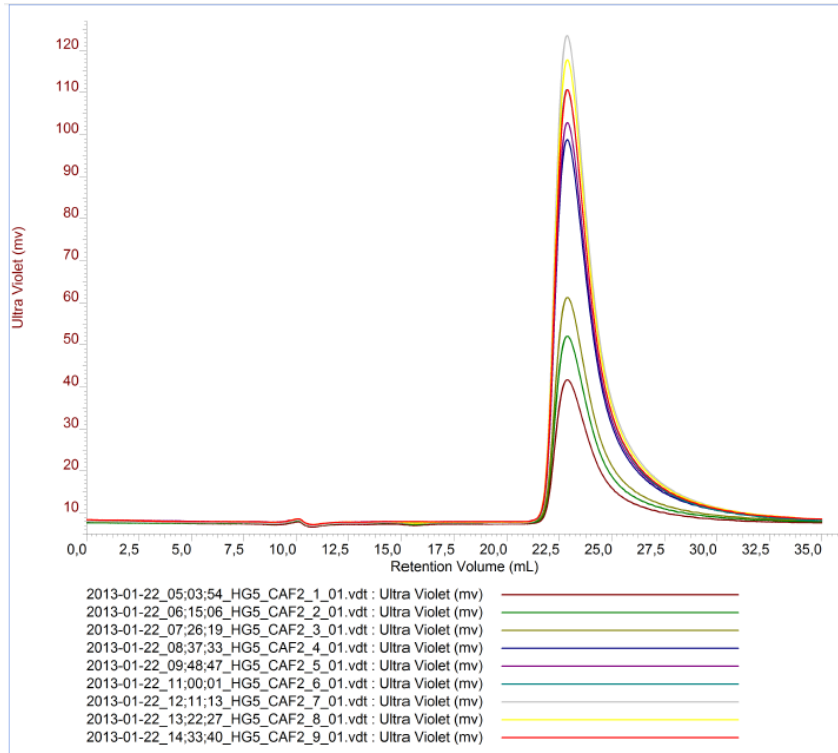
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 3 da Tabela 4 (estímulo ( $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=7,5$ )).



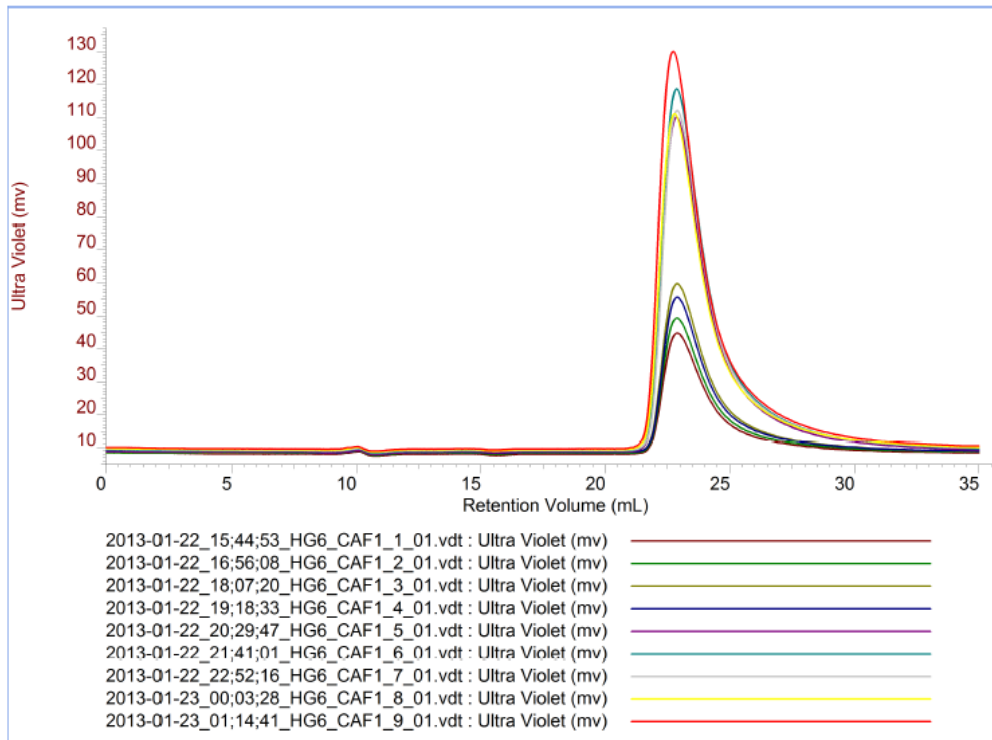
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 3 da Tabela 4 (estímulo ( $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=1,2$ )).



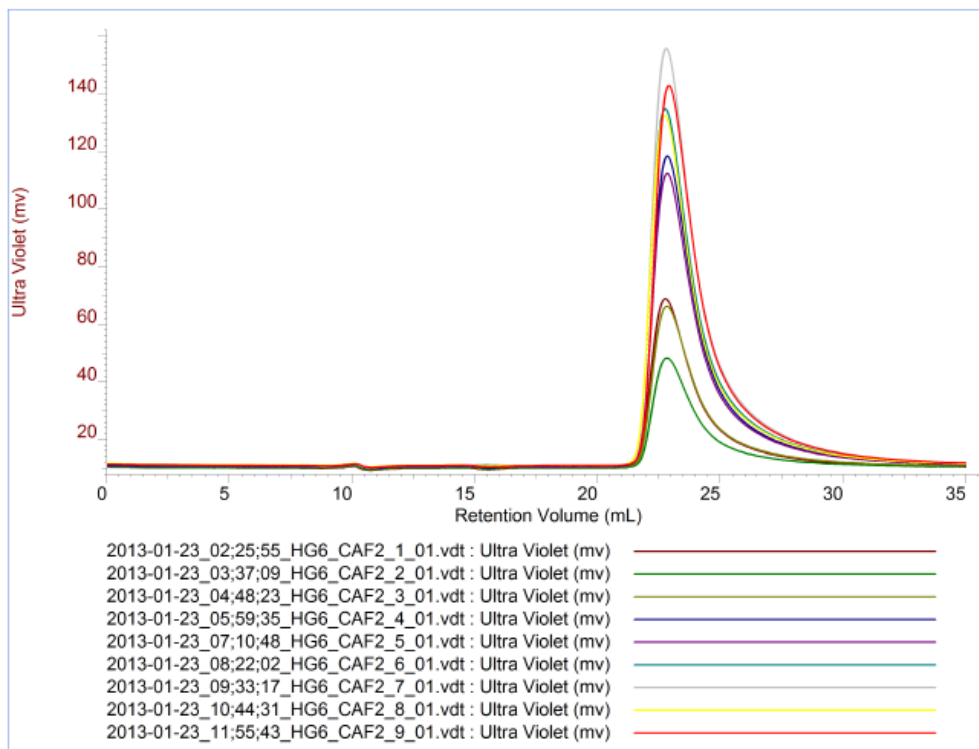
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 4 da Tabela 4 (estímulo (T=22 °C)).



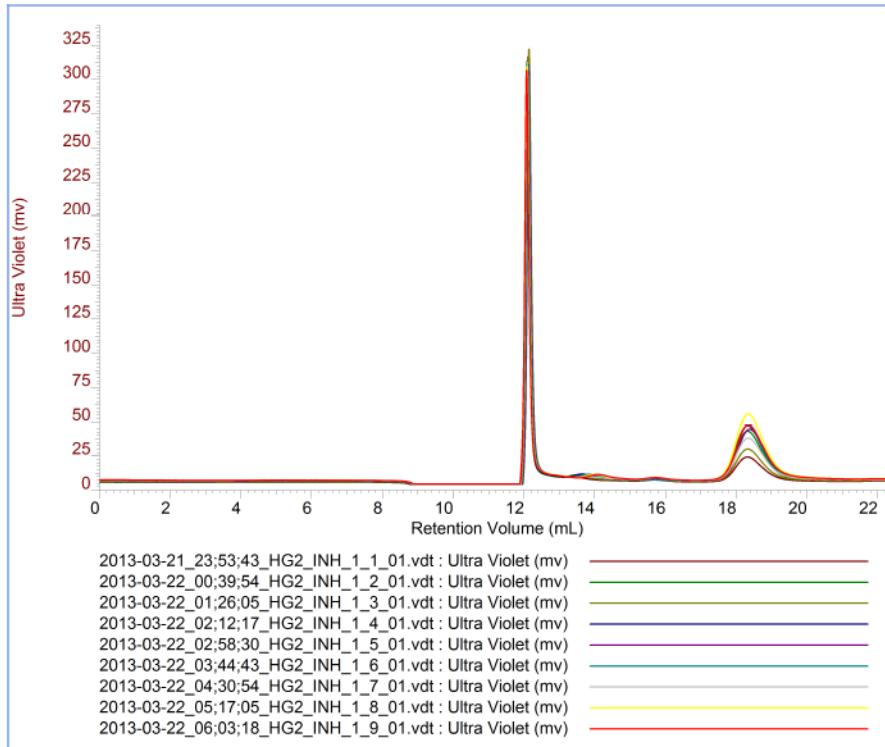
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 4 da Tabela 4 (estímulo (T=37 °C)).



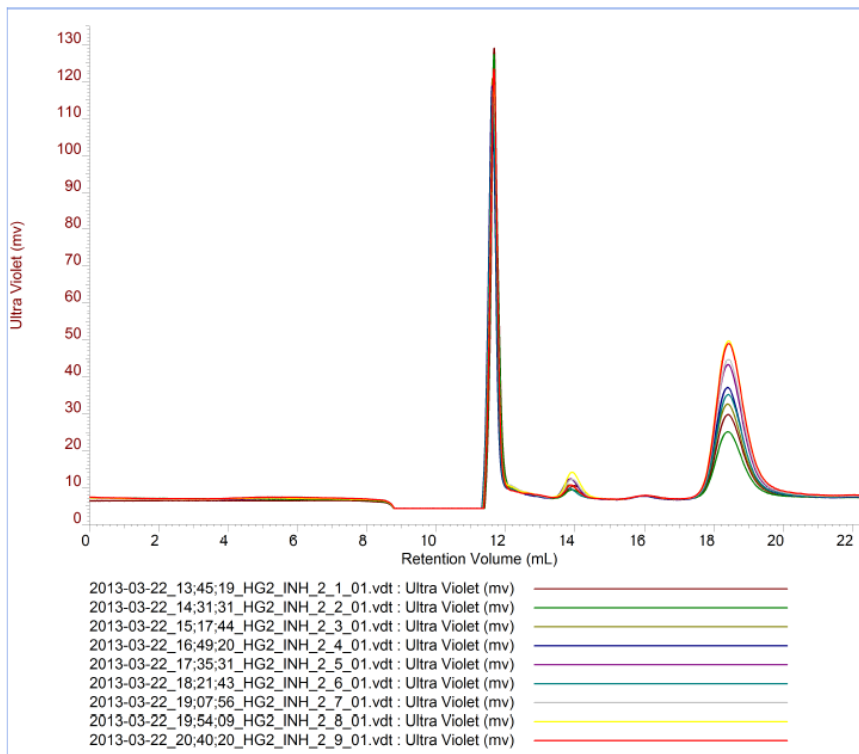
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 5 da Tabela 4 (estímulo (T=22 °C)).



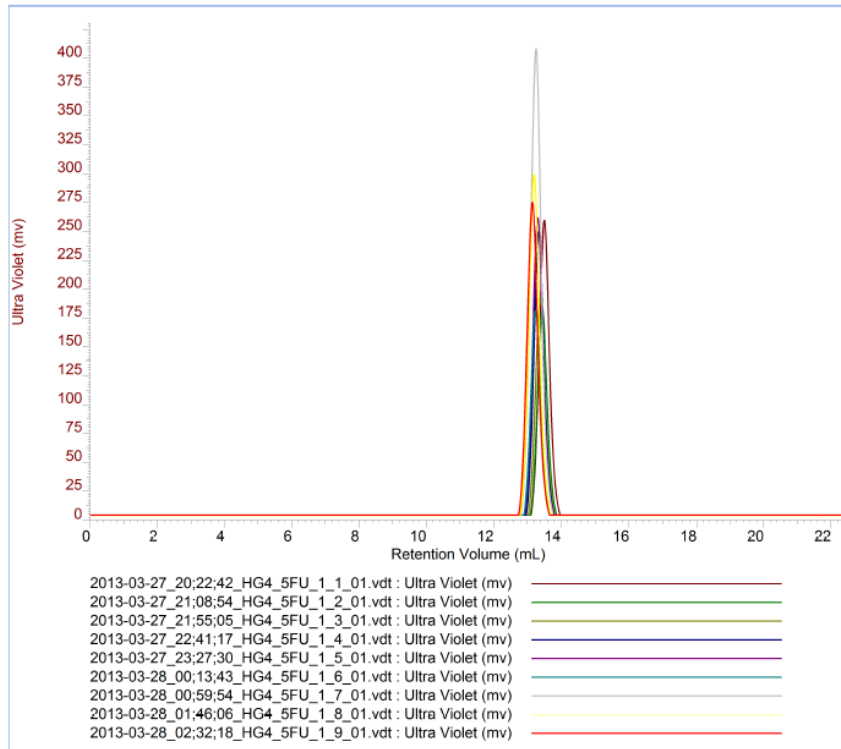
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 5 da Tabela 4 (estímulo (T=37 °C)).



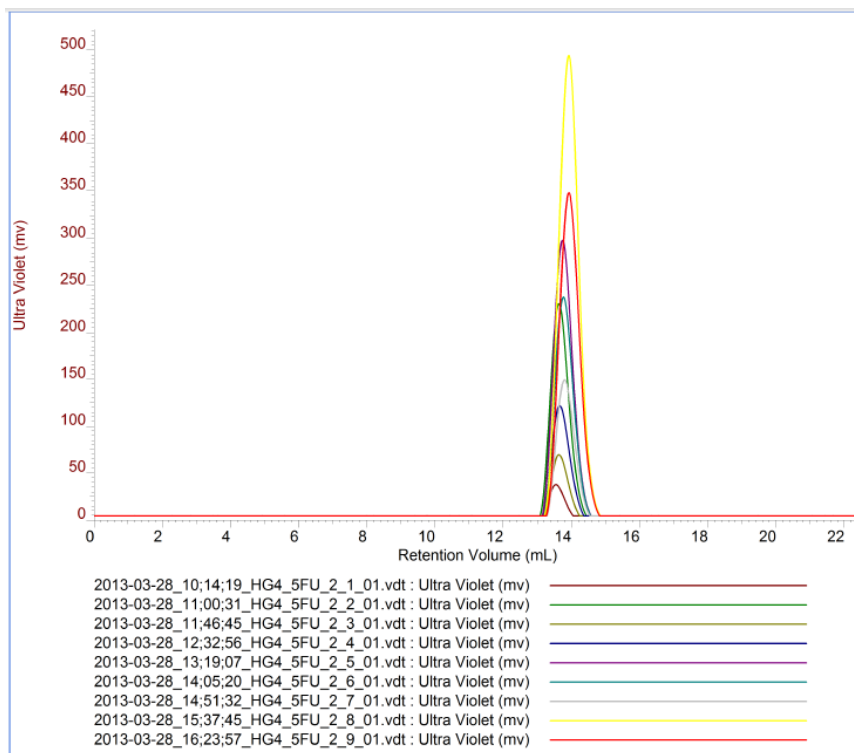
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 7 da Tabela 4 (estímulo ( $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=1,2$ )).



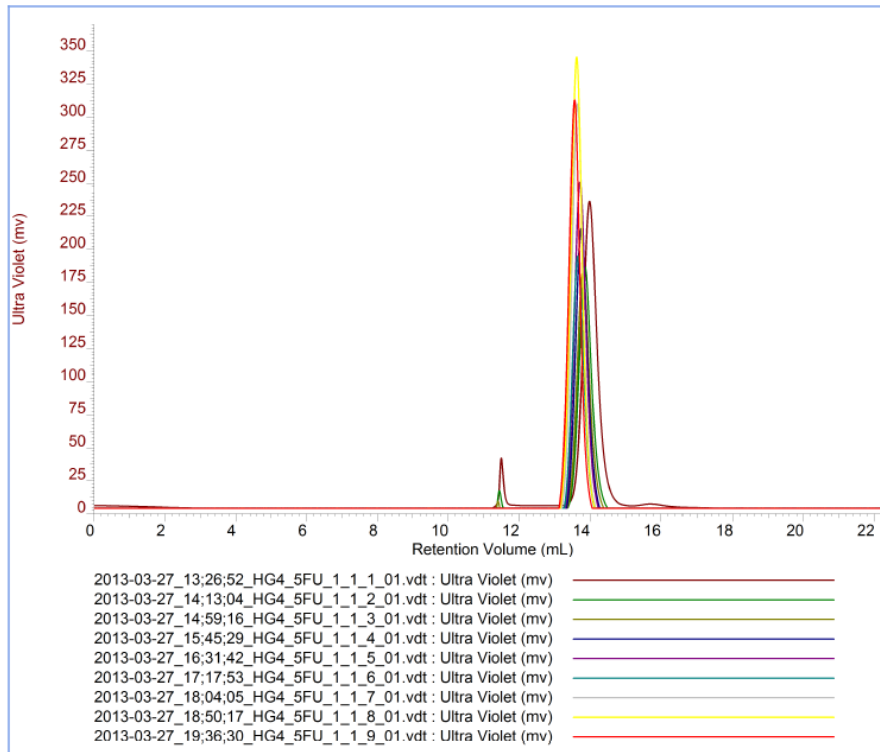
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 7 da Tabela 4 (estímulo ( $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=7,5$ )).



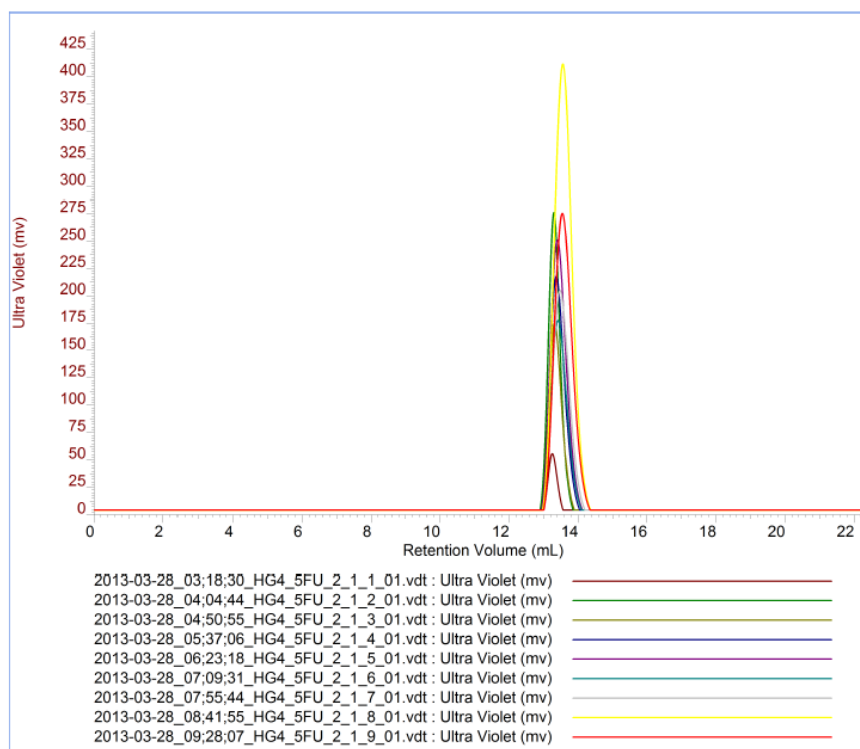
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 8 da Tabela 4 (estímulo ( $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=7,5$ )).



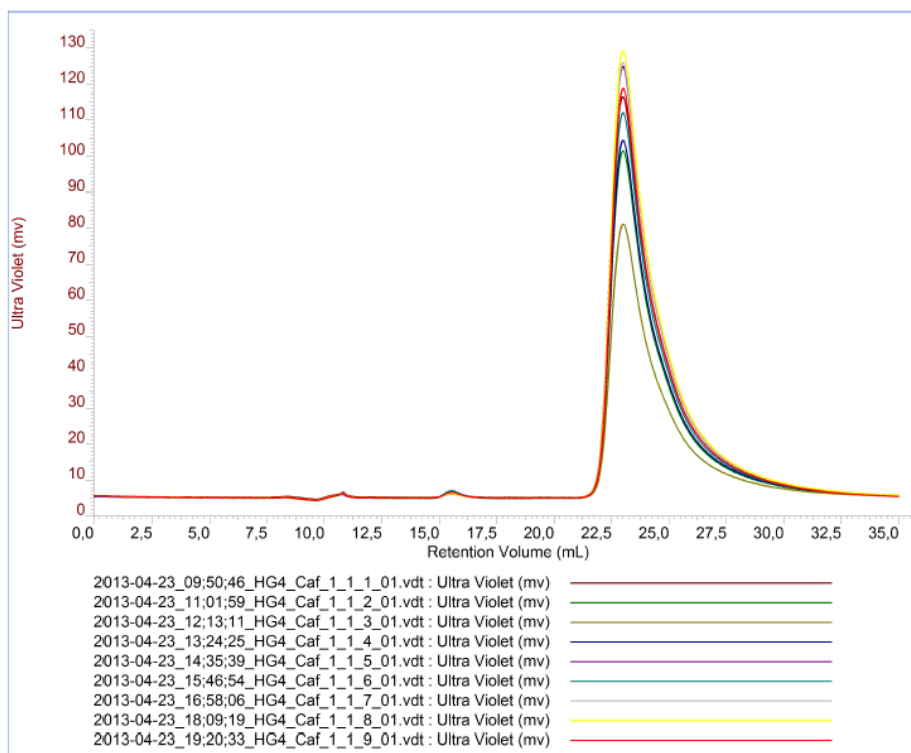
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 8 da Tabela 4 (estímulo ( $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=1,2$ )).



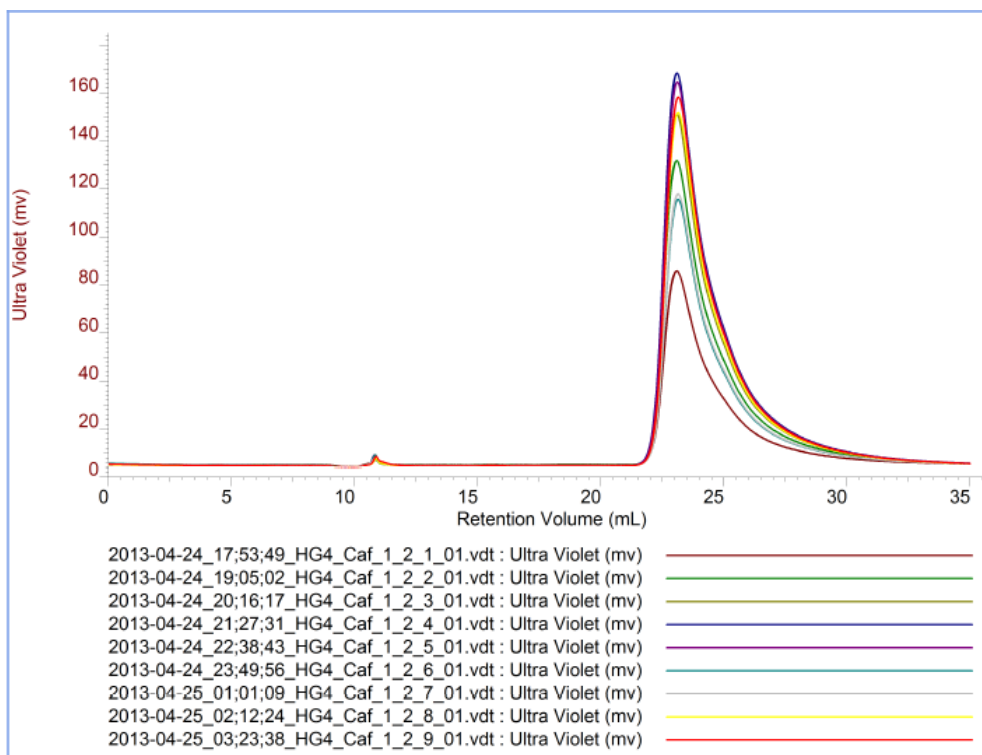
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 8 da Tabela 4 (estímulo ( $T=22\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=7,5$ )). Neste caso usou-se um único filtro para cada estímulo.



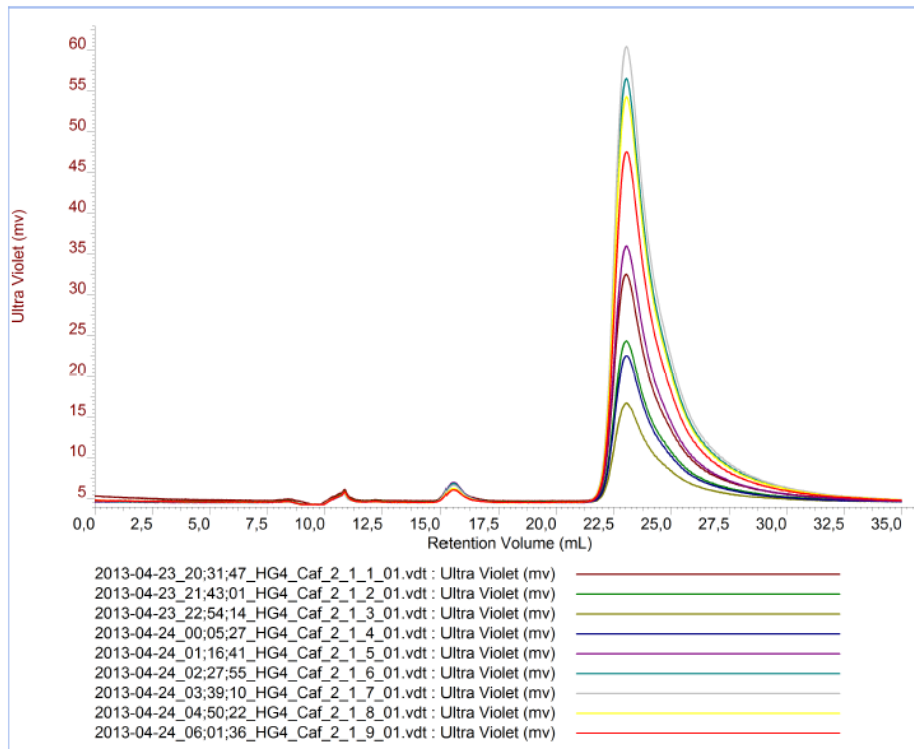
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 8 da Tabela 4 (estímulo ( $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\text{pH}=1,2$ )). Neste caso usou-se um único filtro para cada estímulo.



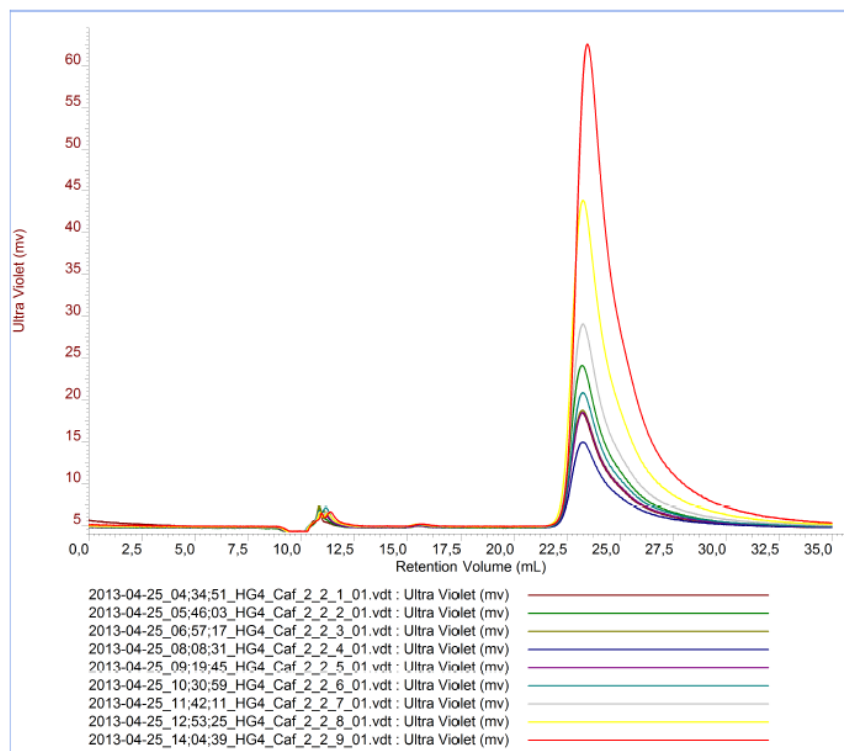
Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 9 da Tabela 4 (estímulo (T=22 °C e pH=7,5)).



Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 9 da Tabela 4 (estímulo (T=37 °C e pH=1,2)).



Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 10 da Tabela 4 (estímulo (T=22 °C e pH=7,5)).



Os cromatogramas da figura anterior dizem respeito ao teste 10 da Tabela 4 (estímulo (T=37 °C e pH=1,2)).