



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

BARBARA EMANUELLE MARIA DA SILVA

**Beads de hidrogel à base de alginato e líquidos iônicos sensíveis ao pH
para carregamento de fármacos**

Recife
2020

BARBARA EMANUELLE MARIA DA SILVA

**Beads de hidrogel à base de alginato e líquidos iônicos sensíveis ao pH
para carregamento de fármacos**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química como
requisito parcial para a obtenção do título
de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Inorgânica

Orientador (a): Severino Alves Júnior

Co-orientador (a): Tânia Maria Cassol

Recife
2020

S586b Silva, Barbara Emanuelle Maria da
Beads de hidrogel à base de alginato e líquidos iônicos sensíveis ao pH para
carreamento de fármacos/ Barbara Emanuelle Maria da Silva. – 2020.
131f., il., fig., tab.

Orientador: Severino Alves Júnior.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN,
Química, Recife, 2020.
Inclui referências e apêndices.

1. Química Inorgânica. 2. Beads Poliméricos. 3. Intumescimento. 4. Liberação de
Fármacos. I. Alves Júnior, Severino. (orientador) II. Título.

546

CDD (22. ed.)

UFPE-CCEN 2021-05

BARBARA EMANUELLE MARIA DA SILVA

**BEADS DE HIDROGEL À BASE DE ALGINATO E LÍQUIDOS
IÔNICOS SENSÍVEIS A PH PARA CARREAMENTO DE FÁRMACOS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação no
Departamento de Química
Fundamental da Universidade
Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Química.

Aprovada em: 02/03/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof. Severino Alves Júnior (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Química Fundamental

Profa. Ivani Malvestiti

Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Química Fundamental

Prof. Leonis Lourenço da Luz

Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Química Fundamental

A Deus, pelo seu amor, pelo sustento e pelo cuidado sobre minha vida; por ter me dado diariamente a capacitação e a força necessária para que eu pudesse desenvolver o meu trabalho; por me ajudar a ser cada dia uma pessoa melhor. A toda a minha família, pelo apoio e por estar sempre comigo em todos os momentos decisivos da minha vida, dando-me inclusive suporte e motivação para a realização deste trabalho e para a conclusão do mestrado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser a base da minha existência e a razão pela qual estou de pé. Pela sua graça e misericórdia, posso crescer e expandir o meu conhecimento e as minhas experiências.

Ao meu orientador professor Severino Alves Júnior, por sua dedicação em ensinar-me e ajudar-me em todos os momentos, por me dar apoio e suporte em todas as etapas deste trabalho, contribuindo para que eu pudesse realizá-lo e desenvolvê-lo.

À minha co-orientadora professora Tânia Maria Cassol, por me auxiliar no desenvolvimento do trabalho e me acompanhar, mesmo que à distância, em cada etapa da trajetória do mestrado.

A todos os professores que no decorrer do mestrado contribuíram para a minha formação.

Aos alunos e integrantes do Laboratório de Terras Raras – BSTR, do dQF, pela amizade e por me ajudarem nas etapas do desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos, companheiros e funcionários do Departamento de Química Fundamental - dQF, da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, pela amizade e apoio durante o mestrado.

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação em Química, especialmente a Patrícia Santa Rosa, pela atenção necessária.

Ao Grupo de Líquidos Iônicos e Metais (GLIM) do Departamento de Química e Biologia - DaQBi, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, por me conceder as amostras dos líquidos iônicos utilizados nos experimentos, feitos em parceria com o nosso grupo de pesquisa.

À Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, por me permitir realizar a caracterização dos materiais através do uso do Espectrômetro de absorção na região do UV-vis.

Ao Laboratório de Combustíveis (LAC) do Laboratório Integrado de Tecnologia em Petróleo, Gás e Biocombustíveis (LITPEG) da UFPE, por me ceder a análise de caracterização das amostras do meu material através do Espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e auxílio financeiro.

A toda a minha família, em especial ao meu marido e aos meus pais pelo companheirismo e motivação para chegar até aqui.

“Feliz o homem que acha sabedoria, e o homem que adquire conhecimento; porque melhor é o lucro que ela dá do que o da prata, e melhor a sua renda do que o ouro mais fino” (BÍBLIA, Provérbios, 3, 13,14).

RESUMO

Beads poliméricos de hidrogel são uma classe de materiais bastante empregados em biotecnologia, principalmente como carreadores de agentes bioativos por meio de entrega e liberação controlada. Recentemente, sais orgânicos líquidos à temperatura ambiente, também chamados de líquidos iônicos (LIs), têm sido utilizados como solventes na produção de beads de hidrogel em sistemas de liberação. Neste trabalho, beads de hidrogel sensíveis ao pH foram produzidos à base de alginato, utilizando líquidos iônicos (LIs) de forma inédita como agentes reticulantes. Dentre os LIs testados, o LI A1 [brometo de 1-(4-etóxi-1-butanossulfonato)-3-metilimidazol], o qual é inédito e foi sintetizado, e o LI A2 (hidrogenossulfonato de trietilamônio) resultaram na formação de beads através de interação com o alginato. O LI A1 e os beads formados foram caracterizados através de Espectroscopias de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), de Raman e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN- ^1H), Análise Termogravimétrica (TGA) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As bandas em 1730 e 1035 cm^{-1} vistas no espectro de FTIR mostraram interações iônicas e forças intermoleculares entre os grupos carboxilato do alginato e os grupos funcionais dos LIs, os quais indicaram uma reticulação iônica na formação da rede polimérica. Testes de variação do grau de intumescimento demonstraram que sob pH 6,0 e 7,4, os beads apresentam dissolução total em poucos minutos, enquanto que sob pH 1,2, permanecem estáveis durante 7 horas. Os fármacos indometacina e 5-fluorouracil foram encapsulados nos beads, como visto através dos espectros de infravermelho. A liberação dos fármacos a partir dos beads formados com o LI A1 atingiu aproximadamente 50% (m/m) em 7 horas, sob pH 1,2, enquanto que os beads formados com o LI A2 demonstraram não liberar os fármacos. O modelo cinético de liberação de Korsmeyer-Peppas aplicado não foi o mais adequado para a compreensão do mecanismo de liberação a partir dos beads, sendo necessária a aplicação de outros modelos para este estudo. No geral, o presente trabalho sugeriu a obtenção de um biomaterial com potencial aplicação no carreamento de fármacos utilizados em tratamentos com especificidade de pH.

Palavras-chave: Beads Poliméricos. Intumescimento. Liberação de Fármacos. Fluorouracil. Indometacina.

ABSTRACT

Polymeric hydrogel beads are a class of materials widely used in biotechnology, mainly as carriers of bioactive agents through controlled delivery and release. Recently, liquid organic salts at room temperature, also called ionic liquids (ILs), have been used as solvents in the production of hydrogel beads in delivery systems. In this work, pH-sensitive hydrogel beads were produced based on alginate, using ILs in an unprecedented way as crosslinking agents. Among the tested ILs, the IL A1 [1-(4-ethoxy-1-butylsulfonic)-3-methylimidazolium bromide], which is unprecedented and was synthesized, and the IL A2 (triethylammonium hydrogen sulfate) resulted in the formation of beads through interaction with alginate. The IL A1 and the beads formed were characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Raman and Nuclear Magnetic Resonance (NMR- ^1H) spectroscopies, Thermogravimetric Analysis (TGA) and Scanning Electron Microscopy (SEM). The bands at 1730 and 1035 cm^{-1} seen in the FTIR spectrum showed ionic interactions and intermolecular forces between the alginate carboxylate groups and the functional groups of the ILs, which indicated an ionic crosslinking in the formation of the polymeric network. Tests of variation in the degree of swelling showed that under pH 6.0 and 7.4, the beads show total dissolution in a few minutes, while under pH 1.2, they remain stable for 7 hours. The drugs indomethacin and 5-fluorouracil were encapsulated in the beads, as seen through the UV-Vis spectra. The release of drugs from beads formed with IL A1 reached approximately 50% (w/w) in 7 hours, under pH 1.2, while beads formed with IL A2 demonstrated not to release drugs. The Korsmeyer-Peppas drug release kinetic model applied was not the most suitable for understanding the release mechanism from beads, requiring the application of other models for this study. In general, the present study suggested obtaining a biomaterial with potential application in carrying drugs used in treatments with specificity of pH.

Keywords: Polymeric beads. Swelling. Drug release. Fluorouracil. Indometacin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Exemplos de polímeros naturais e sintéticos usados na formação de hidrogéis	26
Figura 1	Reticulação do poli-isopreno no processo de vulcanização	27
Figura 2	Reticulação iônica entre alginato funcionalizado e CaCl_2 na formação de hidrogéis	29
Figura 3	Reticulação covalente entre poli(aldeído guluronato) e poli(acrilamida-co- hidrazida) na formação de hidrogéis	31
Figura 4	Interações entre o alginato funcionalizado com uma sequência de peptídeos RGD, e integrinas de células embrionárias de ratos, na reticulação celular para formação de hidrogéis	32
Figura 5	Estrutura química do alginato. Blocos lineares dos polímeros na construção M-M (A), G-G (B) e M-G (C)	34
Figura 6	Ligações cruzadas entre cátions Ca^{2+} e cadeias de alginato, formando estrutura do tipo "caixa de ovo"	35
Figura 7	Estruturas químicas dos fármacos metotrexato e flurbiprofeno	36
Figura 8	Classificação dos líquidos iônicos Classificação dos líquidos iônicos	37
Figura 9	Exemplos de cátions e ânions comumente utilizados na formação de LIs	37
Figura 10	Rede polimérica esférica com moléculas de fármaco dispersas em seu interior (A); Rede intumescida com água (B); Dissolução e dispersão do fármaco pela rede intumescida (C); Liberação do fármaco no meio causada pela degradação da rede polimérica (D)	39
Figura 11	Beads firmes e opacos obtidos por Peng Lin et al. (A); beads gelatinosos obtidos por Djamel Tahtat et al. (B)	44
Figura 12	Ilustração esquemática da preparação de beads poliméricos	45
Figura 13	Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura obtidas para beads de poliacrilonitrila com corte transversal (A) e (B) e carregados com íons Pb^{+2} (C) e íons Cd^{+2} (D) após adsorção	48
Figura 14	Beads de alginato (a) e beads de alginato carregados com enzima <i>tannase</i> (b)	49

Figura 15 –	À direita, beads obtidos a partir de alginato com borax a partir de plantas de <i>Portulaca oleracea</i> ; À esquerda, variação da taxa de intumescimento dos beads com a mudança do pH	50
Figura 16 –	Estrutura química do fármaco anti-inflamatório indometacina	52
Figura 17 –	Estrutura química do fármaco anti-neoplásico 5-fluorouracil	53
Figura 18 –	Estrutura proposta para o líquido iônico A1, juntamente com as estruturas dos líquidos iônicos A2, A3 e A4	56
Figura 19 –	Espectros de absorção no UV-Vis da indometacina (A) e do 5-fluorouracil (C); Curvas de calibração contruídas para a indometacina (B) e o 5-fluorouracil (D)	59
Figura 20 –	Esquema de síntese do íon do material de partida	61
Figura 21 –	Esquema de síntese do líquido iônico A1, a partir do material do partida	61
Figura 22 –	Estrutura proposta para o LI A1 na sua forma iônica dissociada em meio aquoso	62
Figura 23 –	Espectro de infravermelho do líquido iônico A1 sintetizado	63
Figura 24 –	Espectro Raman obtido para o LI A1 sintetizado	64
Figura 25 –	Estrutura proposta para o líquido iônico A1 sintetizado, com a numeração dos carbonos em azul	64
Figura 26 –	Espectro de RMN- ¹ H obtido para o líquido iônico A1 sintetizado	65
Figura 27 –	Ampliação do espectro de RMN ¹ H para a faixa de deslocamento químico entre 7,4 e 9,2 ppm	66
Figura 28 –	Ampliação do espectro de RMN ¹ H para a faixa de deslocamento químico entre 3,4 e 5,0 ppm	66
Figura 29 –	Ampliação do espectro de RMN ¹ H para a faixa de deslocamento químico entre 1,4 e 3,0 ppm	67
Figura 30 –	Ilustração do método de preparo dos beads de hidrogel encapsulados com fármacos	69
Figura 31 –	Beads formados a partir dos líquidos iônicos A1 e A2 a 25%	70
Figura 32 –	À esquerda, tamanho aproximado do diâmetro dos beads formados depois de secos; À direita, diâmetro dos beads depois de secos medido com régua (a menor divisão da escala de medida é de 1 mm)	71

Figura 33 –	Beads/A2 formados antes de serem secos	71
Figura 34 –	Da esquerda para a direita: beads/A1 com líquido iônico A1 a 25%, 50% e 75%, depois de secos	71
Figura 35 –	Beads/A1 na presença dos solventes etanol, acetona, DMF e hexano	73
Figura 36 –	Espectro de infravermelho do sistema beads/A1, juntamente com o alginato e o líquido iônico A1	74
Figura 37 –	Estrutura do alginato de sódio	74
Figura 38 –	Configuração proposta para a reticulação iônica do LI A1 com o alginato de sódio disposto em blocos G-G. As interações iônicas são dadas em laranja e as pontes de hidrogênio em azul	76
Figura 39 –	Espectro de infravermelho do sistema beads/A2, juntamente com o alginato e o líquido iônico A2	78
Figura 40 –	Configuração proposta para a reticulação iônica do LI A2 com o alginato de sódio. As interações iônicas são dadas em laranja e as pontes de hidrogênio em azul	79
Figura 41 –	Espectro Raman obtido para o sistema beads/A1, em comparação com o LI A1 e o alginato	81
Figura 42 –	Espectro Raman obtido para o sistema beads/A2, em comparação com o LI A1 e o alginato	82
Figura 43 –	Curvas de TGA do sistema beads/A1 nas concentrações de líquido iônico a 25%, 50% e 75%	84
Figura 44 –	Curvas de TGA do sistema beads/A2 nas concentrações de líquido iônico a 25%, 50% e 75%	85
Figura 45 –	Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) obtidas para o sistema beads/A1: bead (A), aumento na superfície do bead (C) e corte transversal no centro do bead (B) e (D)	86
Figura 46 –	Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) obtidas para o sistema beads/A2: bead (A) e aumento na superfície do bead (C), (D) e (E)	88
Figura 47 –	Imagens de microscopia óptica obtidas para os sistemas beads/A1 (à esquerda) e beads/A2 (à direita) após a secagem a vácuo	89
Figura 48 –	Imagens de microscopia óptica obtidas para os sistemas beads/A1 (à esquerda) e beads/A2 (à direita) intumescidos com água após 2 minutos	89

Figura 49 –	Ilustração dos beads submersos em soluções com diferentes valores de pH para análise do grau de intumescimento	91
Figura 50 –	Grau de intumescimento para o sistema beads/A1 com líquido iônico a 50%, sob pH 1,2	93
Figura 51 –	Grau de intumescimento para o sistema beads/A2 com líquido iônico a 25% e 50%, sob pH 1,2	94
Figura 52 –	Interações entre os grupos hidrogenossulfonato protonados e as moléculas de água na configuração da reticulação do LI A2 com o alginato, a altas concentrações de LI. As interações iônicas são mostradas em laranja e as pontes de hidrogênio em azul. As moléculas de água são representadas por círculos vermelhos	96
Figura 53 –	Interações entre os grupos hidrogenossulfonato protonados e as moléculas de água na configuração da reticulação do LI A2 com o alginato, a baixas concentrações de LI. As interações iônicas são mostradas em laranja e as pontes de hidrogênio em azul. As moléculas de água são representadas por círculos vermelhos	96
Figura 54 –	Grau de intumescimento dos sistemas beads/A1 e A2 com líquidos iônicos a 50% depois de 5 minutos, sob pH 1,2, 6,0 e 7,4	97
Figura 55 –	Estrutura química do fármaco anti-inflamatório indometacina Estrutura química do fármaco anti-inflamatório indometacina	101
Figura 56 –	Espectro de infravermelho obtido para o sistema beads/A1 com e sem indometacina	102
Figura 57 –	Espectro de infravermelho obtido para o sistema beads/A2 com e sem indometacina	103
Figura 58 –	Estrutura química do fármaco anti-neoplásico 5-fluorouracil	104
Figura 59 –	Espectro de infravermelho obtido para o sistema beads/A1 com e sem 5- fluorouracil	104
Figura 60 –	Espectro de infravermelho dos beads/A2 com e sem 5-fluorouracil	105
Figura 61 –	Espectros de absorção na região do UV-Vis para os sistemas beads/A1 (à esquerda) e beads/A2 (à direita) com indometacina encapsulada	106
Figura 62 –	Espectros de absorção na região do UV-Vis para os sistemas beads/A1 (à esquerda) e beads/A2 (à direita) com 5-fluorouracil encapsulado	107
Figura 63 –	Liberação da indometacina a partir do sistema beads/A1 sob pH 1,2	111

Figura 64 –	Linearização da curva de liberação da indometacina obtida a partir do modelo de Korsmeyer-Peppas para o sistema beads/A1 sob pH 1,2	113
Figura 65 –	Liberação do 5-fluorouracil a partir do sistema beads/A1 sob pH 1,2	115
Figura 66 –	Linearização da curva de liberação do 5-fluorouracil obtida a partir do modelo de Korsmeyer-Peppas para o sistema beads/A1 sob pH 1,2	117

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Expoente difusional n do modelo de Korsmeyer-Peppas e mecanismos de difusão	42
Tabela 2 –	Concentrações das soluções dos fármacos utilizadas para obtenção das respectivas curvas de calibração	100
Tabela 3 –	Massas dos fármacos obtidas a partir das concentrações corrigidas após a diluição e dos valores de absorbância obtidos nos espectros	107
Tabela 4 –	Resultados do encapsulamento da indometacina nos sistemas beads/A1 e beads/A2	108
Tabela 5 –	Resultados do encapsulamento do 5-fluorouracil nos sistemas beads/A1 e beads/A2	108
Tabela 6 –	Dados obtidos a partir da linearização do modelo de Korsmeyer-Peppas para o sistema beads/A1 com indometacina	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-FLU	5-Fluorouracil
A1	Brometo de 1-(4-etóxi-1-butanossulfonato)-3-metilimidazol
A2	Hidrogenossulfato de trietilamônio
A3	Cloreto de 1-(1-propilsulfonato)-3-metilimidazol
A4	Metanossulfonato de 1-Heptil-3-metilimidazol
BSTR	Laboratório de Terras Raras
DMF	Dimetilformamida
DTA	Análise Térmica Diferencial
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
GLIM	Grupo de Líquidos Iônicos e Metais
INDO	Indometacina
LI	Líquido iônico
Lumi	Luminescência
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
P.A.	Para análise
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de próton
TGA	Análise Termogravimétrica
UV-Vis	Ultravioleta-visível

LISTA DE SÍMBOLOS

k	Constante cinética de proporcionalidade
M	Massa molar
m/m	Massa por massa
M_t	Massa de fármaco liberado no tempo t
M_∞	Massa de fármaco liberado no tempo infinito
m/v	Massa por volume
n	Expoente difusional
Q	Ganho de massa de fármaco pela rede polimérica
r	Raio
S_w	Grau de intumescimento
t	Tempo
w_0	Massa da rede polimérica não intumescida
w_t	Massa da rede polimérica intumescida depois do tempo t
π	3,141592...
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	25
2.1	HIDROGÉIS.....	25
2.2	PROCESSOS DE RETICULAÇÃO POLIMÉRICA.....	27
2.2.1	Reticulação iônica	28
2.2.2	Reticulação covalente.....	30
2.2.3	Reticulação celular	31
2.3	ALGINATO: PROPRIEDADES E FORMAÇÃO DE HIDROGÉIS	33
2.4	LÍQUIDOS IÔNICOS.....	36
2.5	INTUMESCIMENTO E MECANISMOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS ..	38
2.6	BEADS POLIMÉRICOS E SUAS APLICAÇÕES	43
2.6.1	Formação de beads por reticulação.....	45
2.6.2	Formação de beads por polimerização.....	46
2.6.3	Formação de beads por inversão de fase.....	46
2.6.4	Principais aplicações	47
2.7	FÁRMACOS ENCAPSULADOS EM BEADS POLIMÉRICOS	50
3	OBJETIVOS.....	54
3.1	GERAL	54
3.2	ESPECÍFICOS.....	54
4	MATERIAIS E TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO.....	55
4.1	MATERIAIS E REAGENTES	55
4.2	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO.....	56
4.2.1	Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).....	56
4.2.2	Espectroscopia Raman.....	57
4.2.3	Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H).....	57
4.2.4	Análise Termogravimétrica (TGA).....	58
4.2.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	58

4.2.6	Espectroscopia de absorção UV-Vis	58
5	LÍQUIDO IÔNICO A1	60
5.1	SÍNTESE DO LÍQUIDO IÔNICO A1	60
5.2	CARACTERIZAÇÃO DO LÍQUIDO IÔNICO A1 SINTETIZADO.....	61
5.2.1	Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).....	61
5.2.2	Espectroscopia Raman	63
5.2.3	Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H).....	64
6	BEADS DE HIDROGEL À BASE DE ALGINATO E LÍQUIDOS IÔNICOS..	68
6.1	MÉTODO EXPERIMENTAL: PREPARAÇÃO DOS BEADS	68
6.2	ANÁLISE MORFOLÓGICA DOS BEADS	69
6.3	TESTE DE ESTABILIDADE EM SOLVENTES	72
6.4	CARACTERIZAÇÃO DOS BEADS FORMADOS	73
6.4.1	Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)	73
6.4.2	Espectroscopia Raman	80
6.4.3	Análise Termogravimétrica (TGA)	82
6.4.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	86
6.5	GRAU DE INTUMESCIMENTO E SENSIBILIDADE AO PH.....	90
6.5.1	Método experimental: perfil de intumescimento	90
6.5.2	Avaliação do perfil de intumescimento e sensibilidade ao pH	91
7	ENCAPSULAMENTO E LIBERAÇÃO DOS FÁRMACOS	99
7.1	PERFIL DE ENCAPSULAMENTO	99
7.1.1	Método experimental: encapsulamento dos fármacos.....	99
7.1.2	Caracterização dos beads com fármacos.....	101
7.1.2.1	Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)	101
7.1.2.1.1	<i>Indometacina</i>	<i>101</i>
7.1.2.1.2	<i>5-Fluorouracil.....</i>	<i>103</i>
7.1.2.2	Espectroscopia de absorção UV-Vis	106
7.1.3	Encapsulamento e eficiência de encapsulamento	107

7.2	PERFIL DE LIBERAÇÃO	109
7.2.1	Método experimental: liberação	109
7.2.2	Liberação dos fármacos e estudo do mecanismo de liberação.....	110
8	CONCLUSÕES.....	118
9	PERSPECTIVAS	121
	REFERÊNCIAS	122

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de biomateriais tem emergido no ramo da biotecnologia, principalmente no que diz respeito à procura por substâncias com o desempenho de tratar ou substituir tecidos, órgãos ou funções do corpo por meio de resposta biológica (HELMUS; TWEDEN, 1995). Polímeros naturais e sintéticos são alguns dos compostos utilizados em combinações para a formação de biomateriais, atuando como carreadores de fármacos, biomarcadores, reconstrutores de tecidos, membranas, dentre outras aplicações (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006). Na composição destes compostos, os polímeros devem apresentar propriedades específicas que garantam a isenção de resposta biológica adversa, sendo não-tóxicos, biocompatíveis e bioestáveis.

Uma classe de biomateriais poliméricos extensivamente utilizados em aplicações biomédicas são os hidrogéis. Definidos como redes tridimensionais hidrofílicas e poliméricas capazes de absorver grandes quantidades de água, assemelham-se ao tecido vivo mais do que qualquer outra classe de polímeros sintéticos (ESAM et al., 2011). Dependendo do tipo de hidrogel, a quantidade de água presente na rede pode variar entre 10% a milhares de vezes o seu próprio peso (LYONS et al., 2009). A sua rede polimérica é formada através de reticulação química ou física, solúvel em água, que conferem ao mesmo consistência, flexibilidade e permeabilidade, expandindo seu emprego como um biomaterial.

Dependendo das características do polímero que compõe o hidrogel, o mesmo pode responder com sensibilidade a variações das condições no ambiente. São os chamados “hidrogéis inteligentes”. Tratam-se de sistemas que podem mudar suas propriedades com a variação das condições externas do meio, como pH, temperatura, luz, etc (TAKAHASHI, 2014). Os principais usos destes sistemas são direcionados à liberação controlada de fármacos em tratamentos de vários tipos de doenças, além da formação de curativos de queimaduras e ferimentos.

Os hidrogéis direcionados às aplicações biomédicas geralmente são preparados na forma de películas, filmes, cápsulas ou esferas, de acordo com a finalidade do biomaterial em questão. As esferas poliméricas, ou também os chamados beads poliméricos, são redes tridimensionais que se interligam de forma

esférica, formando uma casca de hidrogel com lacunas ou espaços em seu interior, os quais podem acomodar partículas ou fármacos (SEIDL et al., 1967).

Os beads são obtidos na forma de pequenas esferas semelhantes a pérolas, podendo ser firmes ou gelatinosos, opacos ou translúcidos, onde a textura obtida e o seu tamanho médio variam de acordo com o método de preparação. Há muitos trabalhos que envolvem a formação de hidrogéis na forma de beads poliméricos em diversas aplicações. Samah Hamed Almurisi et al., por exemplo, formaram beads poliméricos de hidrogel baseados em alginato e quitosana para o encapsulamento do fármaco paracetamol, a fim de estudar a viabilidade do material como um carreador. Já Djamel Tahtat et al., desenvolveram beads poliméricos de hidrogel baseados em alginato para a absorção de íons Pb (chumbo) no pH gástrico a fim de prevenir o envenenamento causado pela intoxicação na ingestão de chumbo no organismo. (ALMURISI, S.H. et al., 2020; TAHTAT, D. et al, 2017)

O alginato é um polissacarídeo extraído de algas marrons (Phaeophyceae), composto por cadeias lineares de ácido α -L-gulurônico (G) e ácido β -D-manurônico (M) (PAWAR; EDGAR, 2012; CAVALLARO et al., 2013; KHAZAELI; PARDAKHTY; HASSANZADEH, 2008). Trata-se de um biopolímero de baixa toxicidade, hidrófilo e relativamente barato com capacidade de se ligar a íons multivalentes para formar beads de hidrogel (ROWLEY; MADLAMBAYAN; MOONEY, 1999; COMPOSADA et al., 2015). Vários estudos descrevem a preparação de beads formados por reticulação de alginato também com outros polímeros (WANG; WANG; HUANG, 2017; KAMOUN et al., 2015). Facchi et al., por exemplo, preparou beads de hidrogel usando gotejamento constante de uma solução de alginato em quitosana sob lenta agitação (FACCHI et al., 2018).

Recentemente, líquidos iônicos (LIs) foram desenvolvidos para dissolver biopolímeros de baixa solubilidade, oferecendo a possibilidade de compor hidrogéis e beads de hidrogel em sua formação. Os LIs são sais orgânicos que apresentam temperatura de fusão abaixo de 100° C, contendo em sua estrutura cátions e ânions volumosos, com carga deslocalizada. Destacados entre os solventes por serem considerados “solventes verdes”, são capazes de solubilizar tanto compostos orgânicos polares e apolares quanto compostos inorgânicos e poliméricos (LEE et al., 2009). Alguns biopolímeros como quitosana, celulose e DNA são utilizados em

biomateriais juntamente com líquidos iônicos para produzir beads, filmes ou membranas em diversas aplicações (LEE et al., 2010).

Em 2016, D. Sathya Seeli et al. prepararam beads de hidrogel de goma de guar e alginato carregados com ibuprofeno, para avaliar a viabilidade do sistema como um carreador de fármacos (SEELI et al., 2016). Já em 2008, Ya-Ni Dai et al. estudaram a liberação de nifedipina dos beads de hidrogel formados a partir de N-succinyl quitosana e alginato (DAI et al., 2008). A utilização de sistemas constituídos por beads de hidrogel intumescíveis (que podem inchar-se ou aumentar de volume sem a ruptura da estrutura) é de grande interesse para o desenvolvimento de biomateriais direcionados à liberação de fármacos, devido a vantagens como a capacidade de incorporação de altas concentrações de fármacos e produção que recorre a técnicas convencionais, além de apresentarem perfis de liberação reprodutíveis (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; KIERYSA et al., 2016).

Há também diversos estudos relacionados à aplicação de beads de alginato em liberação de fármacos através de sistemas sensíveis ao pH. Na cadeia molecular do alginato, há a presença de grupos -COO^- , os quais protonam em pH baixo e desprotonam em pH alto. Quando em estruturas reticuladas, essas cadeias se dissociam em pH básico, desestruturando o hidrogel, o que é possível perceber pela perda de água e pelas propriedades de intumescimento do material. Isto demonstra que este biomaterial pode ser estudado na composição de hidrogéis inteligentes sensíveis ao pH. Zi-Chen Yin et al. produziram beads de alginato com ágar carregados com indometacina que demonstraram uma resposta sensível ao pH quando expostos a simulações de diferentes regiões do sistema digestivo (YIN; WANG; WANG, 2018).

Diante do grande número de trabalhos divulgados a respeito do estudo de beads baseados em alginato como carreadores de fármacos, é perceptível que estes biomateriais são promissores no desenvolvimento de novos produtos na indústria biomédica. Tendo em vista que uma reticulação iônica entre as cadeias poliméricas na formação dos beads de alginato requer a presença de compostos iônicos para que haja ligações cruzadas entre as cadeias do polissacarídeo, tem-se que os líquidos iônicos podem ser direcionados à formação destes materiais devido às suas propriedades. Suas cadeias anfifílicas constituídas de diversas combinações de cátions e ânions abrem portas para que os líquidos iônicos possam ser utilizados como

eletrólitos, ligantes, estabilizantes, e também como possíveis agentes reticulantes na formação de diversos materiais, como tais beads de hidrogel, por exemplo (HUDDLESTON et al., 2001).

Atualmente, não há trabalhos divulgados à cerca da utilização de líquidos iônicos como agentes reticulantes na formação de hidrogéis ou outros materiais. Desta forma, o objetivo deste trabalho consiste no desenvolvimento inédito de beads de hidrogel sensíveis ao pH baseados em alginato e reticulados com líquidos iônicos específicos. Diante do cenário atual da busca por novos biomateriais baseados em biopolímeros, os beads aqui formados são direcionados ao encapsulamento dos fármacos indometacina e 5-fluorouracil em sua rede polimérica, para avaliação das suas propriedades e da sua viabilidade como um carreador de fármacos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 HIDROGÉIS

Os hidrogéis são materiais poliméricos naturais ou sintéticos constituídos por uma rede tridimensional que possui uma alta capacidade de reter ou absorver grandes quantidades de água em sua estrutura, podendo atingir milhares de vezes a massa dos polímeros presentes no sistema (PEPPAS et al., 2000). A presença de grupos hidrofílicos como $-OH$, $-CONH-$, $-CONH_2-$ na estrutura polimérica explica a alta capacidade de absorção de água, a qual ocorre por meio interações.

Dependendo do tipo das interações que formam a estrutura da sua rede polimérica no processo da gelificação (processo de formação de gel), os hidrogéis podem ser classificados em físicos e químicos. Nos hidrogéis físicos, a rede polimérica é formada por meio de interações não-covalentes, nas quais a reticulação pode ocorrer através de ligações de hidrogênio, forças eletrostáticas, complexação, interações hidrofóbicas, dentre outros (KAMATH; PARK, 1993; RIBEIRO et al., 2014). Hidrogéis que são reticulados com ligações iônicas podem se dissolver com a variação de alguns fatores externos, como pH e temperatura. Já no caso dos hidrogéis químicos, também chamados de permanentes, as cadeias poliméricas são ligadas covalentemente, o que as torna coesas, sendo dificilmente desfeitas com o aquecimento ou com adição de solventes (PEPPAS; KHARE, 1993).

De acordo com o grau de reticulação entre as cadeias poliméricas do hidrogel, podem ser gerados comportamentos elásticos e viscoelásticos (quando apresentam simultaneamente elasticidade e viscosidade), proporcionando aos mesmos uma estrutura rígida e/ou elástica. Gulrez et al. complementam que é possível modificar a estrutura química do hidrogel a partir do controle de sua polaridade, das propriedades superficiais e mecânicas, além da modificação do meio no qual o material está inserido (GULREZ; AL-ASSAF; PHILLIPS, 2011).

Os hidrogéis podem ser formados a partir de biopolímeros e polímeros naturais como colágeno hidrolisado e extratos fracionados de algas marinhas, por exemplo. Também é comum a utilização de hidrogéis formados a partir de polímeros sintéticos, como os hidrogéis de polivinilpirrolidona, obtidos por Fachine et al., e os hidrogéis

formados pela mistura de poli(alilbiguanido-co-alilamina) e poli(ácido vinílico), obtidos por Lio et al. (FECHINE; BARROS; CATALANI, 2004; LIO; MINOURA; NAGURA, 1995). No quadro 1, são apresentados alguns exemplos de polímeros naturais e sintéticos utilizados na formação de hidrogéis.

Quadro 1 - Exemplos de polímeros naturais e sintéticos usados na formação de hidrogéis.

Polímeros naturais	Polímeros sintéticos
Quitosana	Polimetacrilato de hidroxietila
Alginato	Poli (N-(2-hidroxipropil) metacrilato)
Carboximetilcelulose	Polivinilpirrolidona
Metilcelulose	Poliacrilamida
Colágeno	Poliacetato de vinila
Gelatina	Poli (N-isopropil-acrilamida)
Ácido hialurônico	Poli (ácido metacrílico)

Fonte: DAVIS; ANSETH (2002)

A forma e a flexibilidade dos hidrogéis contribuem para a sua extensa aplicação em biomedicina e biologia. São utilizados principalmente na administração de fármacos que reduzem inflamação, além de serem aplicados na produção de lentes de contato, de tecidos regeneradores (*scaffolds*), de pomadas cicatrizantes, no revestimento de medicamentos e em sistemas de liberação de fármacos, como carreadores (AHMED et al., 2015). No caso destes sistemas de liberação, os hidrogéis oferecem vantagens como ação prolongada e efeitos colaterais reduzidos em comparação com a administração convencional de fármacos (SANDEEP; SL, 2012).

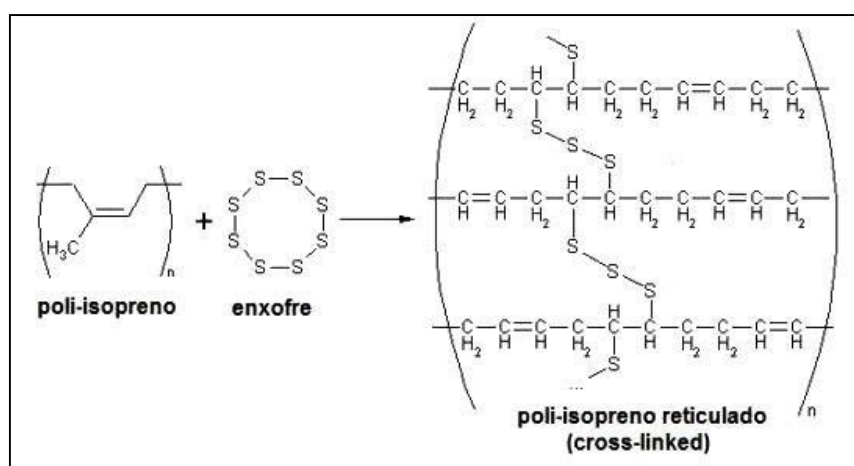
Hidrogéis “inteligentes” apresentam resposta a estímulos externos, inchando e colapsando reversivelmente diante de alterações em condições ambientais, tais como temperatura, pH, forças iônicas, campo elétrico e magnético, luz, pressão, dentre outros (OLIVEIRA et al., 2014). Hidrogéis termossensíveis incham ou desincham (intumescem ou desintumescem) com as mudanças de temperatura no fluido envolvente, podendo detectar condições febris no organismo (GALAEV; MATTIASSON, 2007). Já a resposta ao pH é produzida a partir de polímeros que possuem grupos iônicos livres, os quais em solução aquosa podem sofrer interações, ser protonados ou desprotonados, induzindo a alterações na rede do polímero. No

organismo, por exemplo, estas alterações geram respostas em diferentes regiões do trato gastrointestinal, onde o pH passa de ácido ($\text{pH} = 1,2$), no estômago, a básico ($\text{pH} = 5,0 - 8,0$) no intestino (COSTA, 2012). Alguns hidrogéis são sensíveis à variação das forças iônicas, quando há a presença de sais no meio, podendo se contrair e liberar um agente terapêutico com o aumento da concentração de íons (MACHADO et al., 2014).

2.2 PROCESSOS DE RETICULAÇÃO POLIMÉRICA

Reticulação polimérica, ou *crosslinking*, é um processo que ocorre quando cadeias poliméricas lineares ou ramificadas são interligadas por ligações cruzadas formando polímeros tridimensionais (STEVENS, 1999). Quanto maior o grau de reticulação, mais rígida e consistente se torna a estrutura, o que demonstra que estas ligações cruzadas conferem estabilidade à rede. Há diversos trabalhos relacionados à formação de materiais baseados em redes poliméricas resultantes de processos de reticulação. O exemplo mais comum é o do processo de vulcanização (figura 1), onde cadeias de poli-isopreno (borracha natural) reagem com enxofre fazendo pontes através de ligações covalentes para formar borracha no estado elástico, também conhecida como borracha vulcanizada (MORTON, 1989; CAETANO, 2019).

Figura 1 - Reticulação do poli-isopreno no processo de vulcanização.



Fonte: Adaptado de CAETANO (2019)

A formação de ligações cruzadas é um dos principais métodos utilizados atualmente na preparação de hidrogéis. As reticulações são realizadas entre polímeros hidrofílicos específicos de modo a conferir ao material propriedades físico-

químicas com uma variedade de aplicações. Os materiais tridimensionais resultantes são altamente dependentes do tipo e do grau de reticulação para aplicações diversas. Vagner R. Botaro et al., por exemplo, descreveram, em 2009, a síntese de hidrogéis superabsorvente à base de acetato de celulose reticulados com dianidrido 3,3',4,4' benzofenona para uso em sistemas de liberação controlada de medicamentos, processos de tratamento de água e de separação (BOTARO; SANTOS; OLIVEIRA, 2009).

Comumente, é possível encontrar a formação de hidrogéis reticulados através de três tipos de ligação entre as cadeias: reticulação iônica, reticulação covalente e reticulação celular.

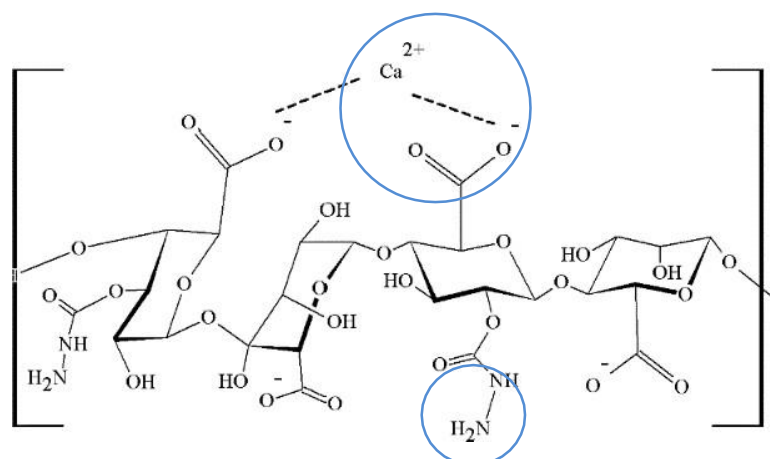
2.2.1 Reticulação iônica

Consiste na combinação de soluções poliméricas com agentes reticulantes iônicos, como cátions multivalentes, por exemplo, interligando as cadeias com um alto grau de ordenação. As ligações cruzadas ocorrem por meio de interações eletrostáticas entre as cadeias (SHANURA et al., 2019). Este tipo de reticulação normalmente leva à formação de hidrogéis físicos, podendo sofrer alterações em sua estrutura com a mudança das condições do meio. O Cloreto de cálcio (CaCl_2) é um dos agentes mais frequentemente usados na reticulação iônica de hidrogéis.

A formação de hidrogéis por este tipo de reticulação geralmente ocorre de maneira rápida. Em alguns casos, pode ocorrer uma gelificação mal controlada dependendo da taxa de reticulação, a qual influencia na uniformidade e na resistência do hidrogel. Desta forma, muitas vezes são utilizados compostos que interajam com o agente reticulante competindo com os polímeros, para que a gelificação seja retardada e ocorra de maneira mais controlada (CROW; NELSON, 2006). A temperatura também influencia na taxa de reticulação. Em temperaturas mais baixas, por exemplo, a reatividade reticulante iônico pode ser reduzida e a reticulação ocorre de maneira mais lenta, levando a uma estrutura com melhores propriedades mecânicas (AUGST; KONG; MOONEY, 2006) de maneira mais lenta, levando a uma estrutura com melhores propriedades mecânicas (AUGST; KONG; MOONEY, 2006).

Dentre os trabalhos divulgados a cerca de hidrogéis formados por reticulação iônica em polímeros, encontra-se diversas aplicações. Recentemente, Hamza Shehzad et al., sintetizou beads poliméricos de hidrogel a partir da reticulação iônica entre o biopolímero alginato funcionalizado e o CaCl_2 , onde os cátions Ca^{2+} interagiram por forças eletrostáticas com grupos carboxilato do alginato, conforme a figura 2. Os grupos funcionais amina e amida presentes nas porções carbamato criaram novos sites ativos também atuaram como ligantes quelantes, interagindo com outros grupos na estrutura. O material formado foi direcionado à aplicação de biossorção de íons Ag^{+1} , a fim de recuperar íons metálicos da lixiviação em licores de baixa ou moderada concentração (SHEHZAD et al., 2018).

Figura 2 - Reticulação iônica entre alginato funcionalizado e CaCl_2 na formação de hidrogéis.



Fonte: Adaptado de SHEHZAD et al. (2018)

Devido à liberação de íons por dissolução no meio circundante através de reações de troca com outros íons, os hidrogéis formados por reticulação iônica apresentam estabilidade limitada em determinadas condições fisiológicas. Fatores biológicos podem influenciar na eficiência destes hidrogéis em aplicações biomédicas. Desta forma, a escolha do tipo de agente reticulante juntamente com o uso de estabilizantes auxilia na eficácia da aplicação do biomaterial.

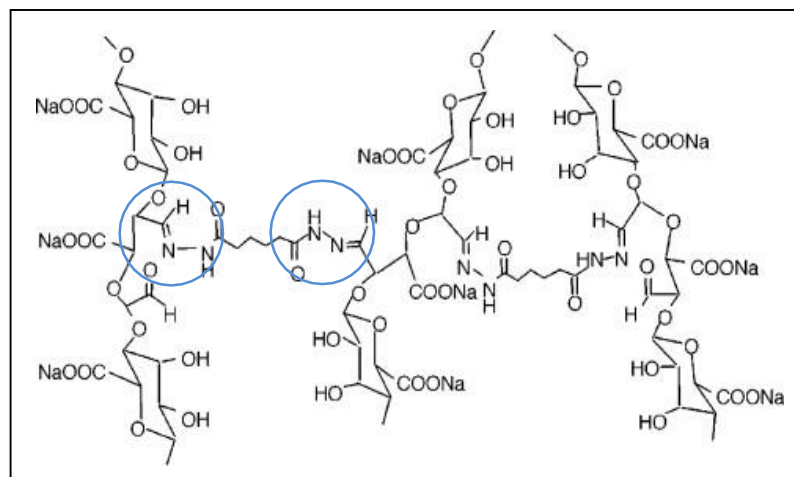
2.2.2 Reticulação covalente

Trata-se de um processo de reticulação que ocorre através da formação de ligações covalentes entre as cadeias poliméricas, gerando hidrogéis estáveis e coesos devido à força e à estabilidade da ligação (PEPPAS; KHARE, 1993). A reticulação covalente forma hidrogéis químicos, os quais não sofrem alterações em sua estrutura com mudanças fisiológicas do meio. É necessária uma reação química ou um choque mecânico para que a estrutura do hidrogel seja deformada.

A ligação covalente formada na reticulação pode ocorrer entre os grupos funcionais terminais das cadeias poliméricas e do agente reticulante, ou também pode ocorrer por meio de irradiação. A radiação ionizante transfere energia para os átomos da cadeia, os quais passam para o estado excitado e decaem para o estado fundamental, estimulando a quebra heterolítica ou homolítica de ligações e favorecendo a formação de radicais. Os radicais reagem no processo de formação das ligações cruzadas, formando ligações covalentes (ÉVORA et al., 2002).

Em 2004, Kuen Yong Leea, Kamal H. Bouhadira, B. e David J. Mooney formaram hidrogéis através da reticulação covalente entre o poli(aldeído guluronato) e a poli(acrilamida-co-hidrazida), a qual atuou como agente reticulante na formação da rede polimérica, a fim de produzir hidrogéis com um controle mais rígido sobre as taxas de degradação e rigidez mecânica (LEE; BOUHADIR; MOONEY, 2004). Conforme mostrado na figura 3, este processo de reticulação foi resultado da substituição nucleofílica na carbonila dos grupos aldeído do poli(aldeído guluronato) pelos grupos amida da poli(acrilamida-co-hidrazida), formando ligações covalentes que tornam os hidrogéis estáveis e resistentes.

Figura 3 - Reticulação covalente entre poli(aldeído guluronato) e poli(acrilamida-co-hidrazida) na formação de hidrogéis.



Fonte: Adaptado de LEE; BOUHADIR; MOONEY (2004).

Durante a migração de água pela superfície de hidrogéis resultantes de reticulação covalente, não há a dissolução de íons no meio e os polímeros permanecem estáveis em sua composição. A incapacidade de dissociar faz com que a estrutura do material seja mantida. Porém, os agentes de reticulação covalente podem ser tóxicos e gerar produtos na reação de formação do hidrogel que devem ser removidos do material (ZHAO et al., 2010). Diferentes tipos de moléculas utilizadas como agentes reticulantes podem apresentar diferentes resultados nas propriedades mecânicas e na taxa de intumescimento dos hidrogéis formados. O polietilenoglicol funcionalizado com grupos amina, por exemplo, é um agente reticulante bastante utilizado, o qual é característico por conferir baixa elasticidade ao hidrogel a partir de uma determinada massa molecular das cadeias interligadas (EISELT; LEE; MOONEY, 1999).

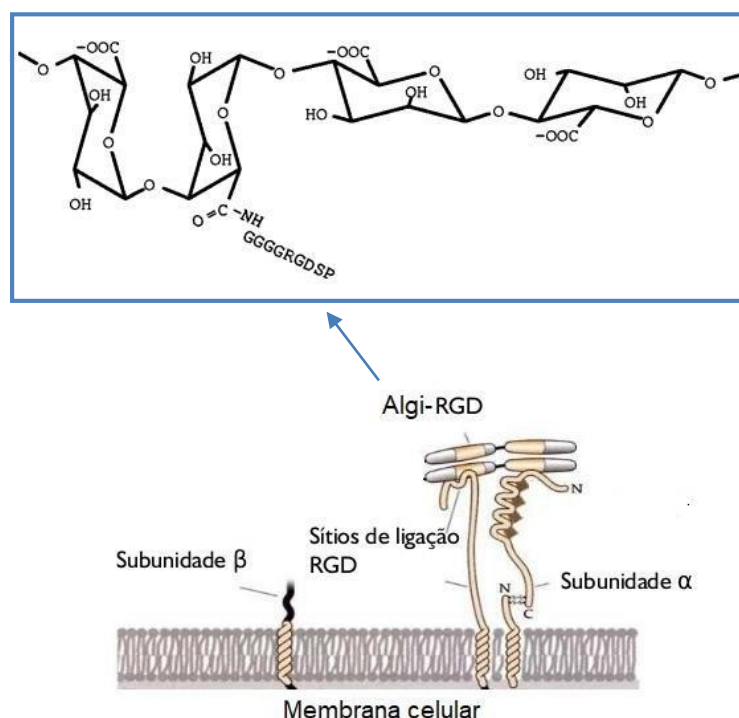
2.2.3 Reticulação celular

A imobilização de células em redes poliméricas para a formação de hidrogéis vem sendo divulgada em trabalhos das áreas biomédica e farmacêutica (LUTOLF et al., 2003). Apesar de ser pouco citada, a reticulação celular é vista como uma alternativa aos métodos de preparação de géis, devido à capacidade das células contribuírem na formação das ligações cruzadas. No processo, as cadeias poliméricas são modificadas pelos ligantes das moléculas de adesão celular (ou integrinas,

moléculas responsáveis pela ligação entre as células ou entre células e a matriz extracelular), formando a rede com as ligações cruzadas entre várias cadeias celulares através de interações receptor-ligante, sem precisar da presença de agentes reticulantes (LEE et al., 2003; ECHALIER et al., 2019).

Funcionalizações realizadas em biopolímeros auxiliam na interação de grupos funcionais específicos com integrinas de células. Jeanie L. Drury et al., por exemplo, formou hidrogéis a partir da reticulação entre cadeias de alginato funcionalizado com a sequência de peptídeos RGD (Arginina-Glicina-Ácido Aspártico), e integrinas $\alpha_5\beta_1$ de células embrionárias C₂C₁₂ de ratos, conforme a figura 4. O acoplamento dos peptídeos à cadeia de alginato resultou num material no qual as células C₂C₁₂ podem ser aderidas, formando ligações diretas com o polímero (DRURY; BOONTHEEKUL; MOONEY, 2005).

Figura 4 - Interações entre o alginato funcionalizado com uma sequência de peptídeos RGD, e integrinas de células embrionárias de ratos, na reticulação celular para formação de hidrogéis.



Fonte: adaptado de DRURY; BOONTHEEKUL; MOONEY (2005).

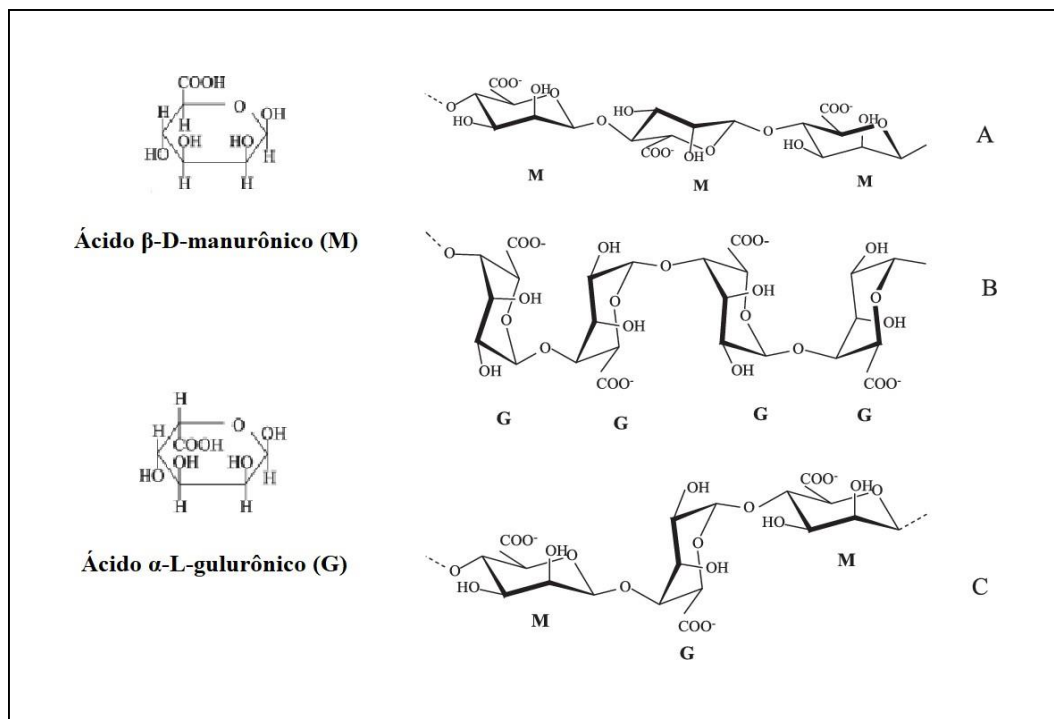
Uma limitação neste processo são as interações célula-célula que podem ocorrer, formando uma agregação que resulta em estruturas não uniformes nos hidrogéis. Contudo, o tipo de célula imobilizada no sistema pode ser escolhida de

acordo com as propriedades requeridas para o material, possibilitando a moldagem do hidrogel. Essa abordagem representa meios promissores de entrega de células específicas em tratamentos terapêuticos no corpo, além de fornecer um novo sistema onde seja possível simular as interações célula-ligante que ocorrem nos processos biológicos.

2.3 ALGINATO: PROPRIEDADES E FORMAÇÃO DE HIDROGÉIS

O alginato é um polissacarídeo tipicamente extraído de algas marrons da classe *Phaeophyceae*, incluindo as algas *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria japonica*, *Ecklonia maxima*, *Lessonia nigrescens*, *Durvillea antarctica* e *Sargassum* por tratamento com soluções alcalinas aquosas (SMIDSROD; SKJAK-BRÆK, 1990). Também pode ser obtido a partir de biossíntese bacteriana, por bactérias como *Azotobacter* e *Pseudomonas* (DRAGET, 2000). Em sua estrutura, o alginato é constituído por copolímeros lineares contendo blocos de ácido α -L-gulurônico (G) e ácido β -D-manurônico (M), os quais constroem a estrutura pela formação de blocos G-G, G-M e M-M, conforme a figura 5 (CAVALLARO et al., 2013; KHAZAELI; PARDAKHTY; HASSANZADEH, 2008). Alginatos extraídos de fontes diferentes variam na ordem de organização dos blocos e no comprimento de cada um deles (OSTGAARD et al., 1993).

Figura 5 - Estrutura química do alginato. Blocos lineares do polímeros na construção M-M (A), G-G (B) e M-G (C).



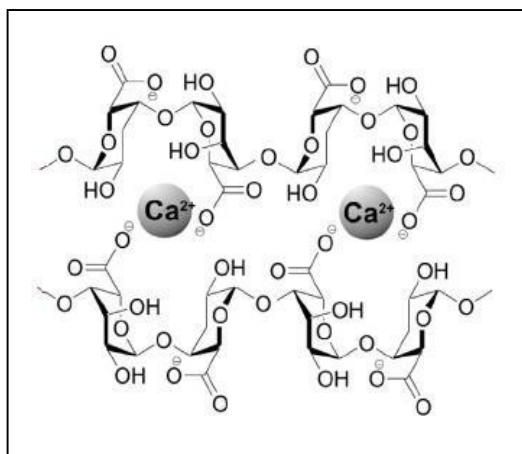
Fonte: Adaptado de OSTGAARD et al. (1993).

O alginato é um dos biopolímeros mais amplamente investigados devido à sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e biodegradabilidade. Suas aplicações englobam principalmente a produções de géis graças ao processo de gelificação no qual as cadeias do alginato participam de reticulação intermolecular na presença de íons multivalentes, como cátions Ca^{2+} , ou na presença de outros agentes reticulantes (CRISPIN; ULISSES; ADRIANA, 2008). Os hidrogéis de alginato podem ser preparados por meio de ligações cruzadas e a sua similaridade estrutural com matrizes extracelulares de tecidos vivos expande suas aplicações em cicatrização de feridas, administração de agentes bioativos, como fármacos e proteínas, além de auxiliar no transplante de células (LEE, K. Y.; MOONEY, 2001). Pelo fato de poderem ser administrados ou injetados no corpo por via oral, os hidrogéis de alginato apresentam uma ampla utilização na área farmacêutica.

Para formar os géis de alginato, soluções contendo alginato são adicionadas a soluções contendo altas concentrações de cátions, formando interações eletrostáticas entre os blocos por meio de reticulação iônica. Zonas são criadas no espaço em que as cadeias estão interligadas, como num modelo de “caixa de ovo” (figura 6), acomodando os cátions em sua estrutura (GRANT, G. T. et al., 1973; LEE; MOONEY,

2012; JUAREZ et al., 2014). Reticulações covalentes também podem ocorrer, como no caso da preparação de hidrogéis de alginato com poli (etileno glicol) – diaminas, através da formação de ligações covalente (EISELT; LEE; MOONEY, 1999). A rigidez e a elasticidade dos géis formados dependem do tipo de cátion utilizado e do grau de reticulação proveniente da concentração tanto do alginato quanto dos cátions em solução. Propriedades como número atômico, raio iônico, força iônica e afinidade química em relação ao alginato também definem as principais características do gel.

Figura 6 - Ligações cruzadas entre cátions Ca^{2+} e cadeias de alginato, formando estrutura do tipo "caixa de ovo".



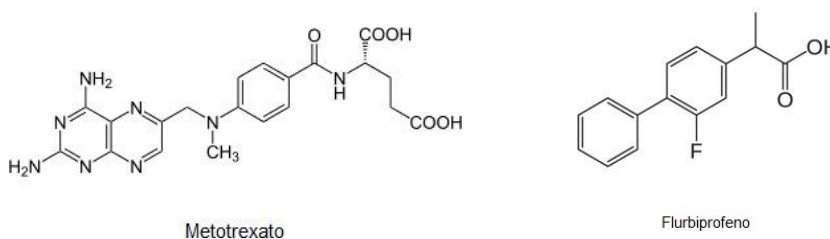
Fonte: Adaptado de JUAREZ et al. (2014).

Geralmente, os hidrogéis de alginato formados são nanoporosos (tamanho dos poros ~5 nm), o que faz com que haja rápida difusão de pequenas partículas através de sua superfície (BOONTHEEKUL; KONG; MOONEY, 2005). Na indústria farmacêutica, estes hidrogéis podem desempenhar um papel significativo na liberação controlada de fármacos, conforme já é visto em diversos trabalhos divulgados, além de serem usados como espessantes, agentes formadores e estabilizantes (LEE; MOONEY, 2012).

Vários medicamentos já foram estudados em relação à sua entrega controlada a partir destes biomateriais, como o flurbiprofeno e o metatrexato, demonstrados na figura 7. Como resultados, foi confirmado que quanto maior o grau de reticulação no hidrogel, mais prolongada é a liberação. Segundo Maiti S et al., a liberação completa de flurbiprofeno a partir de géis de alginato reticulados ocorreu em 1,5 h (MAITI et al., 2009). Já na liberação do fármaco incorporado em esferas poliméricas (beads

poliméricos) de alginato reticulado com íons cálcio e ácido adípico levou a uma liberação prolongada devido ao aumento do número de ligações cruzadas na estrutura. O metotrexato foi rapidamente liberado por difusão, por não interagir com o alginato, enquanto a doxorrubicina, covalentemente ligada ao alginato, foi liberada por hidrólise química (BOUHADIR; ALSBERG; MOONEY, 2001).

Figura 7 - Estruturas químicas dos fármacos metotrexato e flurbiprofeno.



Fonte: Adaptado de MAITI et al. (2009) e BOUHADIR; ALSBERG; MOONEY (2001).

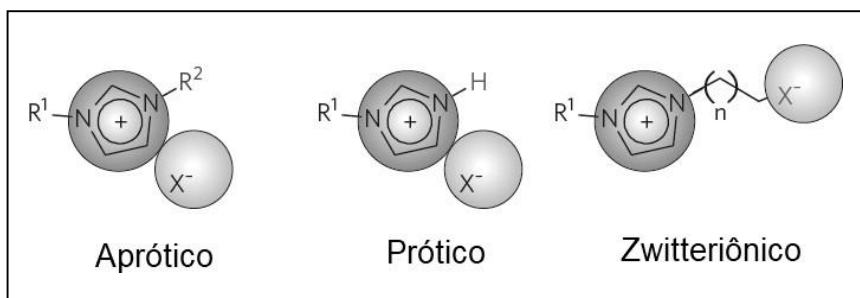
2.4 LÍQUIDOS IÔNICOS

Líquidos iônicos (LIs) são compostos iônicos que apresentam ponto de fusão abaixo de 100 °C (WASSERSCHIED; WELTON, 2002). Sua estrutura é constituída por cátions orgânicos volumosos e não simétricos, e ânions orgânicos ou inorgânicos fracamente coordenados. O grande volume dos íons impede uma polarização da carga pela cadeia por impedimento estérico. Desta forma, a carga é dispersa ao longo da cadeia, evitando o empacotamento da rede e diminuindo seu ponto de fusão. Diferentemente dos íons de sais inorgânicos, os quais são considerados espécies esféricas, os íons volumosos dos LIs possuem uma forma mais complicada. A dispersão da carga reduz a repulsão eletrostática entre os íons orgânicos carregados e lhes permite realizar também outros tipos de interações não-covalentes (DEL POPOLO; VOTH, 2004). Assim, os LIs são capazes de formar interações mais diversificadas, em comparação aos sais inorgânicos fundidos em altas temperaturas.

De acordo com a sua composição, os LIs podem ser classificados em apróticos, próticos e zwitteriônicos, estes últimos carregam tanto a carga positiva quanto a carga negativa na mesma estrutura (figura 8) (ARMAND et al., 2009). Além disso, há diversas combinações de cátions e ânions na formação dos LIs (figura 9) que lhe conferem a possibilidade de serem preparados com propriedades específicas

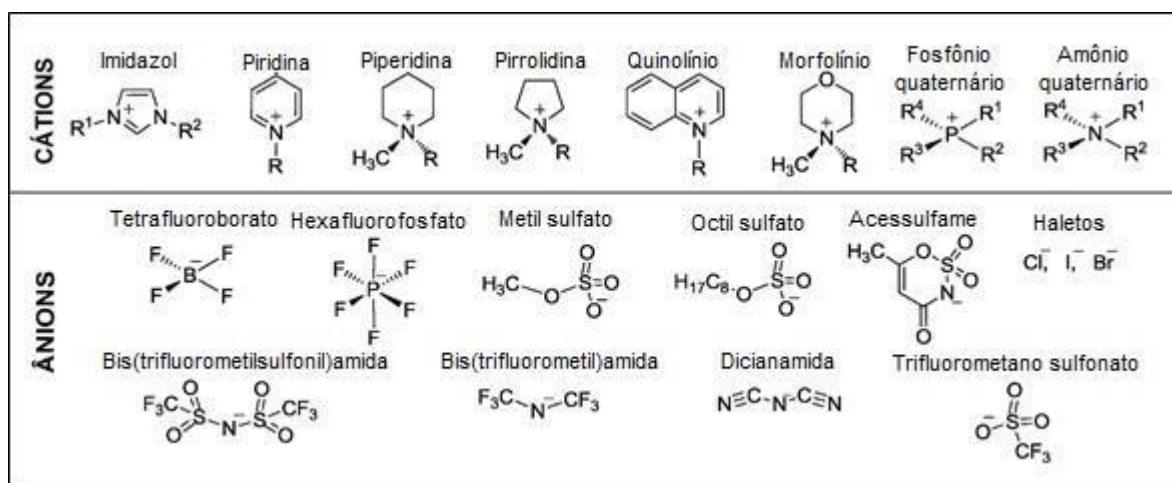
desejáveis (EGOROVA; GORDEEV; ANANIKOV, 2017). É possível otimizar e ajustar propriedades como viscosidade, ponto de fusão, solubilidade, densidade, dentre outras, de acordo com a finalidade da aplicação do LI. Esta flexibilidade faz com que haja uma ampla gama de aplicação destes compostos.

Figura 8 - Classificação dos Líquidos iônicos.



Fonte: Adaptado de ARMAND et al. (2009).

Figura 9 - Exemplos de cátions e ânions comumente utilizados na formação de LIs.



Fonte: Adaptado de EGOROVA; GORDEEV; ANANIKOV (2017).

Uma das características mais importantes dos LIs é a existência de estruturas de “gaiola” estáveis estabelecidas por interações entre as cadeias. Na fase líquida, os íons do LI tendem a automontar-se através da formação de ligações de hidrogênio ou de outros tipos de interação entre si, levando à formação de nano ou microestruturas anfífilas que alteram substancialmente as propriedades do sistema. Assim, os LIs podem acomodar e segurar moléculas de substrato, por exemplo, nestas estruturas (“gaiolas”) como um nanorreator, isolando as moléculas reagentes no meio e exibindo efeito catalítico, de modo que pode acelerar as reações químicas.

Também conhecidos como “*designer solvents*”, os LIs podem ser utilizados como “solventes verdes”, devido à sua baixa pressão de vapor (baixa volatilidade), alta estabilidade térmica e sua capacidade de dissolver tanto compostos orgânicos polares e apolares, quanto compostos inorgânicos e poliméricos (WASSERSCHIED; KEIM, 2000; LEE et al., 2009). Dependendo da combinação de cátions e ânions, os LIs formam microestruturas que podem acarretar misturas homogêneas e heterogêneas com um soluto ou substrato dentro do mesmo sistema, o que é crucial para a análise de fatores biológicos em diferentes aplicações (KASHIN et al., 2016).

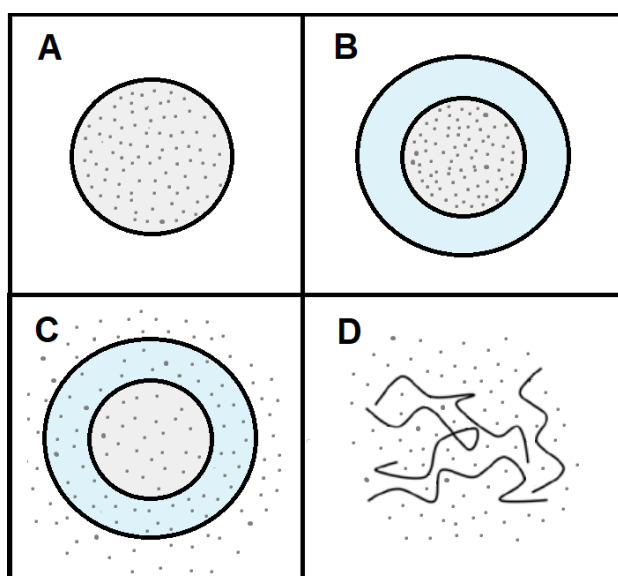
Atualmente, é possível encontrar diversos estudos sobre a aplicação de líquidos iônicos na área farmacêutica, principalmente no que diz respeito à solubilização de medicamentos pouco solúveis. Muitos LIs podem ser utilizados como solubilizantes na síntese de Ingredientes Farmacêuticos Ativos (APIs), atuando como participantes complementares na síntese de drogas. Anexos a moléculas de fármacos por meio de reações químicas, os LIs podem auxiliar na biodisponibilidade e no aprimoramento da eficácia do fármaco em aplicações biomédicas (BICA et al., 2010). LIs já foram testados em microemulsões, agindo na substituição de óleo, água, aditivos ou surfactantes, além de exibirem atividade antimicrobiana, sendo utilizados como conservantes de formulação (QIU; TEXTER, 2008; PERNAK; SOBASZKIEWICZ; MIRSKA, 2003). Isto demonstra que estes compostos são promissores no crescente desenvolvimento de materiais biotecnológicos.

2.5 INTUMESCIMENTO E MECANISMOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

O transporte de um solvente para o interior de um sistema polimérico causando inchaço no mesmo é chamado de intumescimento. A força elástica criada pela expansão da cadeia contrabalança a força osmótica da entrada do solvente, fazendo com que a rede polimérica fique inchada sem modificar a sua estrutura (PEPPAS et al., 1980). A capacidade de adsorção de solutos nestes sistemas está diretamente ligada à sua capacidade de absorver e reter quantidades significativas de solvente, como a água, por exemplo. Desta forma, a difusão de fluidos pela rede polimérica permite que estes materiais possam ser utilizados como sistemas de liberação controlada.

A liberação de agentes bioativos a partir destes sistemas ocorre por meio de difusão, apresentando diversos comportamentos. Na presença de fluidos biológicos, a rede hidrata e intumescce, possibilitando a difusão das moléculas do fármaco, por exemplo, para o meio externo (DANCKWERTS; FASSIHI, 1991). Reações químicas e enzimáticas ou mudanças nas condições do meio também podem ocorrer, ocasionando a degradação das ligações cruzadas da rede polimérica e, conseqüentemente, a dissolução do material (degradação do material). Neste caso, tanto a difusão como a degradação contribuem para a liberação do fármaco. A figura 10 ilustra a difusão do fármaco por uma rede polimérica esférica através de intumescimento e degradação.

Figura 10 - Rede polimérica esférica com moléculas de fármaco dispersas em seu interior (A); Rede intumescida com água (B); Dissolução e dispersão do fármaco pela rede intumescida (C); Liberação do fármaco no meio causada pela degradação da rede polimérica (D).



Fonte: A autora (2020).

A taxa de liberação do fármaco num meio é controlada pela taxa de difusão da água no sistema, ou seja, pela taxa de intumescimento, a qual revela muito sobre o sistema (COSTA; LOBO, 2001). Elevadas taxas de intumescimento ou absorção de água resultam em rápida e descontrolada liberação do fármaco, demonstrando redução estrutural da rede polimérica, além de trazer consequências indesejáveis pro material como a aceleração da degradação e do ataque de microorganismos. Com isso, o entendimento do mecanismo de difusão e da cinética do intumescimento na

rede, juntamente com o conhecimento dos fenômenos que influenciam na difusão do fármaco pelo sistema como o formato geométrico da rede polimérica e o meio em que se encontra o sistema, ajudam a prever como ocorrerá a liberação do fármaco no organismo.

Levando em consideração as propriedades físicas do material, e que há interação entre o solvente e a rede polimérica, vários mecanismos de difusão podem ser observados. Segundo a primeira lei de Fick, o potencial termodinâmico responsável pelo fenômeno da difusão é o gradiente de concentração. O fluxo de difusão ocorre na direção contrária ao do gradiente de concentração, ou seja, no sentido das concentrações altas para as concentrações baixas (FRISH; STERN, 1983). Porém, fatores como o tipo de solvente ou possíveis interações na rede polimérica por onde ocorre a difusão, podem interferir na velocidade deste fluxo no sistema. Desta forma, os mecanismos de difusão e intumescimento vistos nos sistemas poliméricos são classificados de acordo com as velocidades relativas de difusão do solvente e de relaxamento da rede em difusão Fickiana (caso I) e difusão não-Fickiana (caso II ou caso anômalo):

a) Difusão Fickiana ou caso I: Segue o modelo das leis de Fick. Ocorre quando a velocidade de difusão do solvente para dentro da rede é muito menor que a velocidade de relaxamento da cadeia polimérica, a qual representa a velocidade com a qual o polímero reorganiza sua estrutura para acomodar as moléculas da água, entrando num estado de equilíbrio (CARDOT, 1997). Na liberação, o fármaco ou o soluto se dissolve na rede intumescida antes de atravessar o material para o meio externo, sendo liberado devido à diferença de concentração nos dois lados. Em 2015, por exemplo, Jorge Gabriel dos Santos Batista produziu hidrogéis de quitosana, amido de milho modificado e poli(N-vinil-2-pirrolidona), contendo diclofenaco sódico, onde também foram realizados estudos a respeito do mecanismo de difusão do fármaco pela rede polimérica. Foi demonstrado que os hidrogéis contendo quitosana e poli(N-vinil-2-pirrolidona) nas razões de 30:70 e 70:30 apresentaram uma difusão do tipo Fickiana, ocorrendo a dissolução do fármaco na rede seguida do fluxo pelo gradiente de concentração (BATISTA, J. G. S., 2015).

b) Difusão não-Fickiana (caso II ou caso anômalo): Não se enquadra no modelo das leis de Fick. Ocorre quando a velocidade de difusão do solvente é maior (caso II)

ou apresenta mesma magnitude (caso anômalo) que a velocidade de relaxamento da rede polimérica, devido ao fato de as cadeias poliméricas, neste caso, não apresentarem mobilidade suficiente para permitir uma acomodação rápida de água no interior da rede (SUJJA-AREEVATH et al., 1998). Na liberação de fármaco, esta mobilidade é definida de acordo com a forma como as moléculas de soluto estão distribuídas na estrutura, fazendo surgir forças de compressão ou de tração entre as cadeias. O transporte das moléculas também pode ser afetado pela presença de microcavidades existentes na rede polimérica. Fernanda Mansano Carbinatto, por exemplo, preparou em sua dissertação de mestrado pela Universidade Estadual Paulista comprimidos a partir de uma mistura polimérica de pectina e amilose, contendo nimesulida, onde foi analisado o mecanismo de difusão do fármaco no meio. Através de cálculos realizados, foi demonstrada uma difusão não-Fickiana com o fluxo do fármaco do tipo anômalo, sugerindo que a liberação da nimesulida ocorre com velocidade de mesma magnitude em que a rede polimérica é relaxada (CARBINATTO, F. M., 2010).

O perfil de intumescimento pode ser interpretado medindo o grau de intumescimento da rede polimérica em função do tempo, através do cálculo do ganho de massa de água no material depois de um certo tempo. Matematicamente, é possível prever qual o mecanismo de difusão do solvente pela rede e interpretar como ocorre o mecanismo de dissolução de um fármaco ou de um soluto no processo de liberação, a qual pode ser descrita por vários modelos cinéticos como o de ordem zero, de primeira ordem, de Korsmeyer-Peppas, Higuchi, Hixson-Crowell e Baker-Lonsdale (COSTA; LOBO, 2001). O modelo de Korsmeyer-Peppas, em especial, representa a dissolução do fármaco ou do soluto da rede com o tempo, (KORSMEYER, R.W. et al., 1983) de acordo com a equação 1:

$$Q = \frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (1)$$

onde M_t representa a quantidade de fármaco liberada após o tempo t , M_∞ é a quantidade total de fármaco liberado num tempo infinito, ou seja, a quantidade inicial de fármaco, k é a constante cinética de proporcionalidade, a qual incorpora características da rede, e n é o expoente difusional, parâmetro que depende do mecanismo de difusão. Este modelo deve ser aplicado apenas entre os estágios iniciais até os primeiros 60% de fármaco liberados. Após este estágio, a taxa de intumescimento não varia mais com o tempo, ou seja, o material atinge o estado de equilíbrio.

A determinação dos valores de n e k pode ser feita através da linearização da equação 1, representada pela equação 2. Plota-se a curva de $\ln Q$ vs $\ln t$, da qual o coeficiente angular é o valor do expoente difusional n , e o coeficiente linear é $\ln k$.

$$\ln Q = n \cdot \ln t + \ln k \quad (2)$$

As equações relatadas representam retas e a regressão linear dos valores obtidos para Q e t permite verificar se o modelo descreve bem a difusão do soluto pela rede, analisando os valores do coeficiente de correlação R^2 da reta (CARBINATTO, 2010). O valor da constante cinética k representa um significado agrupado que inclui propriedades geométricas do material, propriedades do soluto e interações rede polimérica-soluto. Já o valor de n indica qual o tipo de mecanismo de difusão do fármaco pelo material e apresenta resultados diferentes de acordo com as formas geométricas da rede polimérica. Para materiais esféricos como os beads poliméricos, por exemplo, os mecanismos de difusão são representados pela variação dos valores de n demonstrados na tabela 1 (SIEPMANN; PEPPAS, 2001).

Tabela 1 - Expoente difusional n do modelo de Korsmeyer-Peppas e mecanismos de difusão.

Expoente n	Mecanismo de difusão
0,43	Difusão Fickiana
$0,43 < n < 0,85$	Difusão não-Fickiana (caso anômalo)
0,85	Difusão não-Fickiana (caso II)

Fonte: SIEPMANN; PEPPAS (2001).

A análise do coeficiente de difusão (D) do fármaco pela rede polimérica indica a facilidade ou a dificuldade que o fármaco tem para difundir para fora da rede polimérica, demonstrando a mobilidade do fármaco no solvente. O valor de D pode ser calculado através da equação 3 (KUNDAKCI; UZUM; KARADAG, 2008):

$$D = \pi r^2 \left(\frac{k}{4} \right)^{1/n} \quad (3)$$

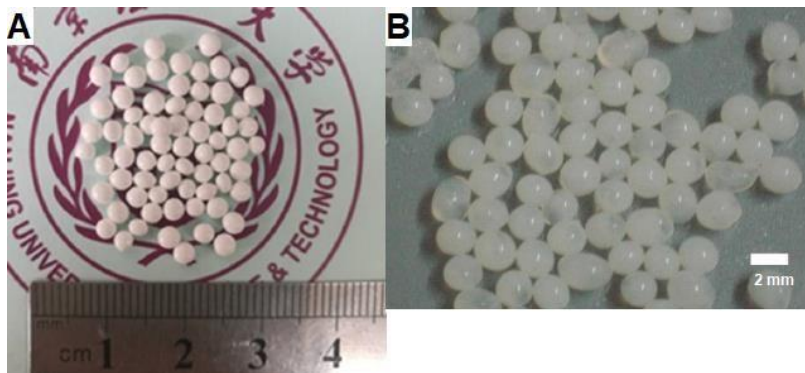
onde r é o raio do material polimérico de forma esférica, por onde o fármaco é difundido com a entrada de água, e k e n são, respectivamente, a constante cinética de proporcionalidade e o expoente difusional, presentes nas equações 1 e 2.

Vários fatores podem influenciar na cinética com a qual ocorrerá a difusão de um soluto por uma rede polimérica, como o tipo de fármaco, por exemplo, tamanho da partícula, solubilidade e quantidade incorporada. Já o coeficiente de difusão do fármaco pela rede polimérica pode ser influenciado por parâmetros como o grau de reticulação das ligações cruzadas na estrutura e o tamanho das zonas de acomodação do fármaco no material, os quais também influenciam a capacidade que uma rede polimérica tem de intumescer (COSTA; LOBO, 2001). No geral, o grau de intumescimento ou a taxa de absorção de água na rede indica como ocorre a difusão de fármacos pela rede polimérica e a sua velocidade, demonstrando se a liberação do soluto no meio externo é adequada ou não para a aplicação em questão.

2.6 BEADS POLIMÉRICOS E SUAS APLICAÇÕES

Beads poliméricos são redes tridimensionais interligadas de forma esférica por meio de interações entre as cadeias poliméricas, formando uma estrutura com lacunas e cavidades em seu interior (SEIDL et al., 1967). Os beads são obtidos na forma de pequenas esferas semelhantes a pérolas, podendo ser firmes ou gelatinosos, opacos ou translúcidos. Peng Lin et al. divulgaram a síntese de beads firmes e opacos de aproximadamente 2,5 mm de diâmetro, enquanto Djamel Tahtat et al., sintetizaram beads gelatinosos com diâmetro aproximado de 2,0 mm, conforme a figura 11 (LIN et al., 2017; TAHTAT et al., 2017). Contudo, a textura e o tamanho médio dos beads varia de acordo com o método de preparação.

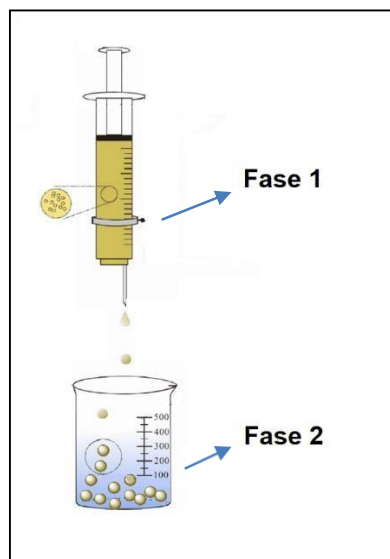
Figura 11 - Beads firmes e opacos obtidos por Peng Lin et al. (LIN et al., 2017) (A); beads gelatinosos obtidos por Djamel Tahtat et al.



Fonte: LIN et al. (2017) (A); TAHTAT et al. (2017) (B).

Geralmente, os beads são obtidos por meio da dispersão ou do gotejamento de uma solução polimérica (fase 1) em outra solução (fase 2), com composição que varia de acordo com o método de preparação. Quando as gotas ou as partículas dispersas entram em contato com a fase 2, as ligações ocorrem no momento e a rede polimérica é formada esfericamente. O tamanho dos beads obtidos tende a ser aproximado ao tamanho das partículas dispersas ou das gotículas imergidas. No caso da preparação por gotejamento, se o mesmo ocorrer em intervalos de tempo diferentes ou de forma irregular, as gotículas serão formadas com uma distribuição de tamanhos diferentes (DOWDING; VINCENT, 2000). Na figura 12, é demonstrada uma ilustração de como é realizada a preparação de beads através do gotejamento da fase 1 na fase 2.

Figura 12 - Ilustração esquemática da preparação de beads poliméricos.



Fonte: Adaptado de LIN, P. et al. (2017)

A formação da estrutura dos beads poliméricos pode ocorrer tanto por meio de interações iônicas ou covalentes, quanto por meio da síntese de polímeros, ou ainda através de forças intermoleculares na rede. A diferença de polaridade em estruturas químicas de diferentes solventes numa emulsão também permite a formação de beads diante da interação entre os meios. O resultado são beads baseados em hidrogéis ou materiais poliméricos diversos, onde o tipo de preparo e a composição do material definem características como firmeza, textura, porosidade, etc. Dentre os métodos de preparação, os mais comuns envolvem a formação de beads por reticulação, por polimerização e por inversão de fase.

2.6.1 Formação de beads por reticulação

Neste caso, os beads são formados por meio de reticulação iônica ou covalente, com a adição da fase 1 contendo uma solução polimérica, na fase 2, contendo o agente reticulante. Quando a fase 1 entra em contato com a fase 2, ligações cruzadas ocorrem entre as cadeias poliméricas instantaneamente nas gotículas, formando as partículas poliméricas esféricas.

Este método é bastante utilizado na formação de beads de hidrogel de biopolímeros, por exemplo. O gotejamento de uma solução de alginato de sódio e uma solução de cloreto de cálcio, por exemplo, forma beads de hidrogel translúcidos

absorventes, através de reticulação iônica, como descrito na seção 2.2.1. (MA; WANG, 2015). Dependendo do tipo de reticulação, os beads podem se deformar ou desestruturar diante de alterações nas condições do meio.

2.6.2 Formação de beads por polimerização

A formação de beads por meio de polimerização pode ocorrer através de precipitação ou suspensão (DOWDING; VINCENT, 2000). No método da polimerização por suspensão, por exemplo, o iniciador da reação é disperso na fase 1 (fase de dispersão) contendo os monômeros, e depois inserido na fase 2 (fase contínua), geralmente contendo água, sob agitação. A solubilidade da fase monomérica em água é baixa, formando partículas numa suspensão, ou seja, formando os beads. Estes beads são representados, então, por uma casca polimérica estável formada esfericamente, muitas vezes por meio do mecanismo de formação de radicais livres. Mojtaba Abbasian et al. prepararam beads a partir da adição de uma solução contendo peróxido de benzoíla e os monômeros estireno e divinilbenzeno numa solução aquosa, ou seja, na fase contínua, para a produção de resinas de troca aniônica (ABBASIAN et al., 2011).

Em alguns casos, é necessária a adição de pequenas quantidades de estabilizantes para impedir a coalescência dos beads, que podem aglomerar no momento da polimerização. A velocidade do agitador utilizado e a fração volumétrica da fase monomérica também podem interferir na uniformidade dos beads produzidos. Se o iniciador da reação for insolúvel na solução monomérica, ocorrerá precipitação no interior das gotículas, resultando em beads opacos e irregulares (DOWDING; VINCENT, 2000).

2.6.3 Formação de beads por inversão de fase

A formação de beads pelo método da inversão de fase é dada pela utilização de dois solventes diferentes na solução polimérica. Neste caso, os polímeros são solubilizados em um solvente (fase 1) e gotejados na fase 2 contendo um outro solvente (o anti-solvente), no qual o polímero deve ser insolúvel ou apresentar baixa solubilidade. Logo, é formada uma emulsão contendo as duas fases (LIN et al., 2017).

Quando os polímeros entram em contato com a fase 2, as forças de repulsão entre os dois solventes agem, fazendo com que as gotículas se transformem em redes tridimensionais esféricas e fiquem suspensas na solução. A estabilidade dos beads suspensos geralmente é controlada pela adição de outros polímeros que regulam a interação entre os meios. Os beads sintetizados por Peng Lin et al. consistiram no gotejamento de uma solução de polietersulfona funcionalizada e dissolvida em DMF, num recipiente contendo água, formando beads numa emulsão. A diferença de solubilidade do polímero com os dois solventes culminou na suspensão dos beads. Polivinilpirrolidona foi utilizado como estabilizante para controlar a dispersão das partículas (LIN et al., 2017).

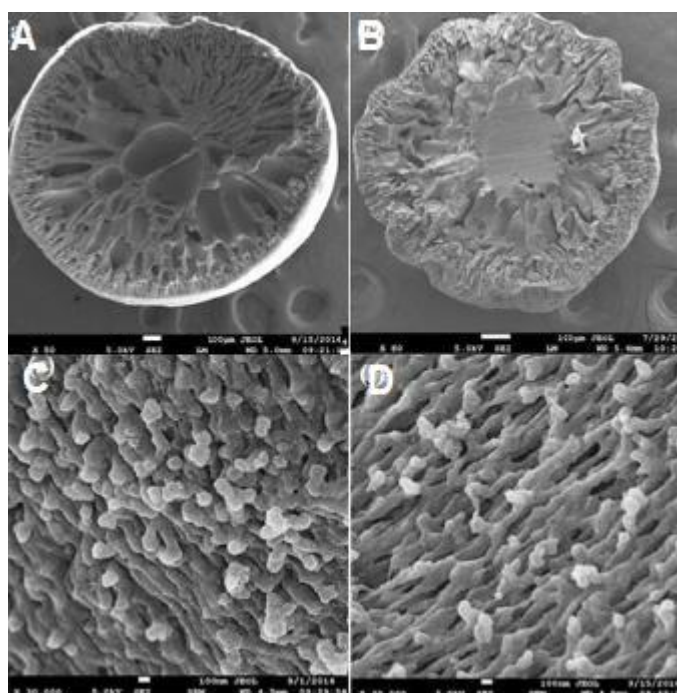
2.6.4 Principais aplicações

Nos últimos anos, beads poliméricos vem sendo utilizados para fornecer materiais com propriedades desejáveis aplicados em diversas áreas. Devido à sua capacidade de encapsular partículas em seu interior, é possível encontrar trabalhos que relatam beads aplicados como meios de separação em cromatografia, como absorventes de metais pesados ou compostos poluentes, como encapsuladores de agentes bioativos na entrega e liberação controlada para diferentes compostos terapêuticos, como proteínas e fármacos, dentre outras aplicações. Dependendo do método de preparação e da sua composição, os beads podem ser moldados com diferentes propriedades como alta ou baixa porosidade e sensibilidade a alterações no meio, o que faz com que o seu campo de aplicação seja amplo.

Beads poliméricos têm sido estudados como solução em proteção ambiental no tratamento de efluentes. Prasenjit Bhunia et al. prepararam beads de poliacrilonitrila através do método de inversão de fase para adsorção de metais pesados como chumbo e cádmio, provenientes de rejeitos industriais não tratados. A capacidade de adsorção obtida foi de 145 mg/g para chumbo e 156 mg/g para cádmio. Através de imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura, pode-se notar o aumento no tamanho dos poros dos beads após a adsorção dos metais conforme a figura 13, o qual foi confirmado através do Analisador Brunauer – Emmett – Teller (BET) (BHUNIA et al., 2018). Na mesma área de aplicação, Li Jin e Renbi Bai produziram beads de hidrogel a partir de quitosana e poli(álcool vinílico) por meio de reticulação,

para absorção de chumbo de soluções aquosas. Verificou-se que os beads eram fortemente dependentes do pH e exibiram uma capacidade máxima de absorção a pH 4 e uma capacidade mínima a pH 6,4 (JIN; BAI, 2002).

Figura 13 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura obtidas para beads de poliácrlonitrila com corte transversal (A) e (B) e carregados com íons Pb^{+2} (C) e íons Cd^{+2} (D) após adsorção.

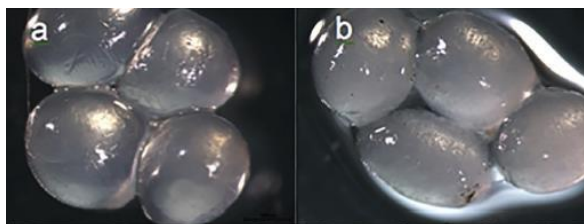


Fonte: BHUNIA et al. (2018).

Na entrega e liberação de agentes bioativos, pode-se encontrar trabalhos como o de Claudio Larosa et al., no qual realizaram a incorporação de enzimas *Aspergillus ficuum tannase* em beads de alginato formados a partir de reticulação iônica, com o objetivo de preservar a atividade catalítica da enzima. Os beads foram obtidos com forma gelatinosa e a sua morfologia não foi alterada após a incorporação das enzimas, conforme as imagens de microscopia óptica mostradas na figura 14. A análise térmica permitiu avaliar a estrutura do material e revelou a presença da enzima *tannase* aprisionada nos beads carregados, o que foi confirmado por espectroscopia vibracional (LAROSA et al., 2018). Já em 2014, Chao Feng et al. também publicaram a respeito da liberação de bioativos. Eles produziram beads a partir de alginato e quitosana/carboximetilquitosana com doxorrubicina imobilizada na estrutura para avaliação da viabilidade do sistema como veículo para liberação controlada de fármacos anti-câncer. A quantidade de doxorrubicina liberada não ultrapassou 3,8%, devido ao excelente efeito protetor das multicamadas poliméricas formadas na

estrutura dos beads (FENG et al., 2014).

Figura 14 - Beads de alginato (a) e beads de alginato carregados com enzima *tannase* (b).

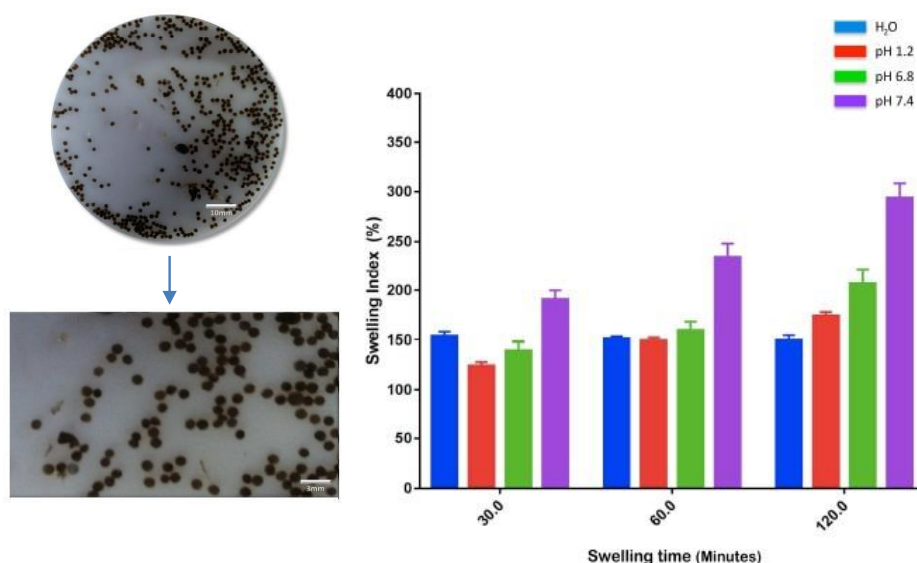


Fonte: LAROSA et al. (2018).

Em algumas aplicações, compostos são usados para melhorar as propriedades dos beads poliméricos ou para auxiliar na sua formação, como os líquidos iônicos, por exemplo. Jilei Wang et al. desenvolveram beads de hidrogel biodegradáveis baseados em colágeno e celulose por inversão de fase, a partir da utilização do líquido iônico cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio para auxiliar na solubilização dos biopolímeros (WANG et al., 2013). Já Min Hoo Kima et al. utilizaram o líquido iônico 1-etil-3-acetato de metilimidazólio para solubilizar a celulose no sistema formado por beads de hidrogel de celulose com a enzima lipase de *Candida rugosa*, através de inversão de fase (KIM et al., 2012).

A sensibilidade e a mudança no perfil de intumescimento de alguns beads poliméricos diante de estímulos ou alterações nas condições do meio, fazem com que estes materiais respondam a mudanças fisiológicas em tratamentos terapêuticos. Geet P. Asnani, Jagan Bahekar e Chandrakant R. Kokare desenvolveram beads sensíveis ao pH de alginato com borax a partir de plantas de *Portulaca oleracea* para o encapsulamento de 5-fluorouracil, a fim de explorar a liberação do medicamento e o potencial de direcionamento do material ao cólon. Foi observado que a maior taxa de intumescimento e consequentemente de liberação do fármaco foi na faixa de pH do cólon (entre 5,0-6,0), enquanto no pH ácido de 1,2, o intumescimento foi baixo, conforme a figura 15. Isto significa que a sensibilidade ao pH do cólon torna este material promissor para a liberação de fármaco nesta região (ASNANI; BAHEKAR; KOKARE, 2018).

Figura 15 - À direita, beads obtidos a partir de alginato com borax a partir de plantas de *Portulaca oleracea*; À esquerda, variação da taxa de intumescimento dos beads com a mudança do pH.



Fonte: ASNANI; BAHEKAR; KOKARE (2018).

O estudo da resposta a alterações no campo magnético também é crescente. Kenneth J. Widder et al. estudaram a liberação de adriamicina a partir de beads de albumina com magnetita (Fe_3O_4), inserindo-os no sistema arterial de ratos através de um catéter. O material ficou retido em pequenas artérias graças à presença da magnetita que apresentou resposta a magnetos extracorpóreos que foram ligados. Após 30 minutos de força magnética aplicada, uma alta porcentagem dos beads ficou retida no local alvo, onde pode ocorrer então a liberação da adriamicina, garantindo que os beads não ficassem circulando pelo sistema (WIDDER; SENYEI; RANNEY, 1980).

Enfim, o amplo campo de aplicação dos beads os torna promissores no crescimento e na evolução da biotecnologia, principalmente em relação ao desenvolvimento de materiais que atendam às demandas da necessidade humana biológica.

2.7 FÁRMACOS ENCAPSULADOS EM BEADS POLIMÉRICOS

É crescente o desenvolvimento de sistemas carreadores de fármacos visando aprimorar ou intensificar o efeito do fármaco ou reduzir os efeitos colaterais através de liberação controlada. Beads poliméricos de várias composições têm sido aplicados

como sistemas de carregamento de fármacos, onde são analisados fatores como a sua capacidade de adsorção, a taxa de encapsulamento e a taxa de liberação em diferentes meios. Muitos dos beads sintetizados apresentam propriedades como biocompatibilidade e estabilidade que direcionam estes materiais aos estudos de carregamento e liberação.

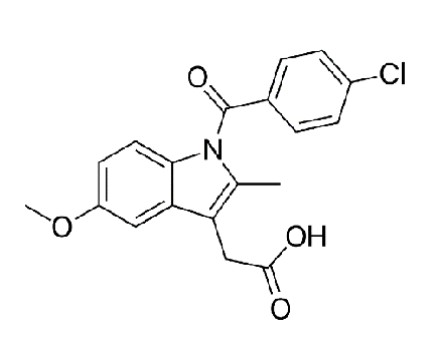
O encapsulamento de fármacos em beads poliméricos geralmente ocorre através da dissolução do fármaco na solução polimérica (fase 1), que depois é adicionada à fase 2, seja por dispersão de partículas ou por gotejamento (ARICA, B. et al., 2002). O processo decorrente, como já comentado no item 2.6, é o de reticulação com a interação entre as fases. O ideal é que a inserção do fármaco no sistema não altere suas propriedades, ou não cause mudanças na estrutura da rede polimérica. Ya-Ni Dai et al., por exemplo, sintetizaram beads de N-succinil-quitosana e alginato carregados com nifedipina, que é um fármaco que atua na dilatação dos vasos sanguíneos, sendo indicado no controle da pressão arterial. No trabalho, a nifedipina foi adicionada na solução contendo a quitosana e foi dispersa sob agitação. Em seguida, a solução foi adicionada na fase 2 contendo CaCl_2 como agente reticulante. No processo, as moléculas da nifedipina foram observadas encapsuladas nos beads sem alterar a rede polimérica, o que foi confirmado através de espectroscopia de absorção na região de infravermelho e do Ultravioleta-visível (DAI et al., 2008).

É possível encontrar várias categorias de fármacos de diferentes ações farmacológicas em sistemas de carregamento baseados em beads poliméricos, como analgésicos, antiinflamatórios, anti-neoplásicos, anti-hipertensivos, dentre outros. Geralmente, os fármacos nos beads são direcionados à aplicação oral visando a liberação controlada e seletiva (ALMURISI et al., 2020). Dependendo da área de atuação do fármaco no organismo, as propriedades dos beads podem ser moldadas ou manipuladas de modo que o sistema libere o fármaco em condições específicas.

Antiinflamatórios comumente encapsulados em sistemas poliméricos são o ibuprofeno, o diclofenaco e a indometacina. A indometacina, por exemplo, é um fármaco antiinflamatório não esteroide, derivado do ácido indol-acético. O seu mecanismo de ação abrange a inibição da enzima *cicloxigenase*, podendo inibir também as enzimas *fosfolipase A2* e *fosfolipase C* (RAMA et al., 2005). Desta forma,

a indometacina apresenta efeito antipirético, reduzindo a dor e a febre. Na sua estrutura química, vista na figura 16, é possível notar a presença de grupos funcionais como éter, ácido carboxílico e haleto orgânico distribuídas numa cadeia aromática, o quais são responsáveis pelas interações no organismo. A indometacina é solúvel em etanol, éter etílico e clorofórmio, apresentando baixa solubilidade em água (da ordem de 8 mg/L) (TSINMAN, K. et al., 2009).

Figura 16 - Estrutura química do fármaco anti-inflamatório indometacina.



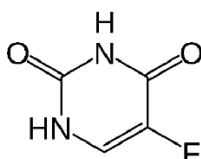
Fonte: RAMA et al. (2005).

No encapsulamento da indometacina em sistemas de beads poliméricos, encontram-se trabalhos como o de H. Suryakusuma e H. W. Jun, no qual encapsularam este fármaco em beads formados a partir de uma reticulação por polimerização, adicionando os monômeros 2-hidroxietilmetacrilato e acrilamida na fase 2 contendo o iniciador radicalar azobisisobutironitrila. A liberação da indometacina através dos beads formados foi mais lenta do que o pó da indometacina administrado isoladamente, num meio contendo solução tampão-fosfato de pH 6,5. A liberação total pelo sistema durou cerca de 8 horas, com uma taxa de 4,5 mg/h (SURYAKUSUMA; JUN, 1984).

Na categoria de anti-neoplásicos, tem-se que o 5-fluorouracil é um dos fármacos mais empregados em estudos de carreamento e liberação de fármacos a partir de beads poliméricos. O 5-fluorouracil é um importante anti-neoplásico utilizado no tratamento de uma variedade de tumores como carcinomas, mamários e hepáticos. No organismo, age como um metabólito, interferindo na síntese de DNA e RNA através de alterações ou inibição de síntese proteica e de enzimas responsáveis pela duplicação do DNA, como a *thymidylate synthetase* (GHOSHAL;

JACOB, 1997). Na sua estrutura química, conforme a figura 17, há a presença de grupos amida e haleto orgânico com a presença de flúor, sendo considerado um composto análogo da pirimidina. O 5-fluorouracil tem uma solubilidade em água quente de aproximadamente 12 mg/mL, sendo solúvel também dimetilsulfóxido, DMF e metanol, além de ser um fármaco que apresenta uma relativa fotossensibilidade, sendo recomendável a manipulação sem iluminação (REYNOLDS, 1996).

Figura 17 - Estrutura química do fármaco anti-neoplásico 5-fluorouracil.



Fonte: GHOSHAL; JACOB (1997).

O 5-fluorouracil é um fármaco de alta toxicidade, que apresenta como principais efeitos colaterais arteriosclerose coronariana, reações dermatológicas, úlcera gastro- intestinal e sangramento (BAYOMI; AL-BADR, 1989). Desta forma, o seu encapsulamento em beads poliméricos visa, principalmente, a redução destes efeitos através de liberação controlada. Merve Olukman et al., em 2012, estudaram a liberação do 5-fluorouracil a partir de beads de alginato reticulados com CaCl_2 , FeCl_3 , ZnCl_2 e AlCl_3 . Foi observado que em 2 horas, 50% do fármaco havia sido liberado do sistema com FeCl_3 a altas concentrações, enquanto que em 6 horas, houve 90%, sob pH 7,4. Sob pH ácido, aproximadamente 70% do fármaco havia sido liberado em 6 horas, o que demonstra que é possível controlar a liberação através da mudança de pH e da concentração do agente reticulante no sistema (OLUKMAN; SANH; SOLAK, 2012).

Sistemas de beads poliméricos têm demonstrado otimizar e aprimorar a atuação do fármaco em diversas especialidades, como citado em alguns trabalhos. O estudo do encapsulamento e da liberação no sistema é importante para avaliar sua viabilidade como um possível carreador, considerando características importantes que possam conferir-lhe um controle de entrada e saída de fármaco da rede. Desta forma, beads de hidrogel de alginato, assim como beads de hidrogel de vários biopolímeros apresentam atributos favoráveis para serem empregados e analisados no encapsulamento de fármacos como o 5-fluorouracil e a indometacina.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Desenvolver beads poliméricos de hidrogel sensíveis ao pH baseados em alginato, utilizando líquidos iônicos específicos de forma inédita como agentes reticulantes, bem como estudar sua morfologia, suas propriedades físico-químicas e avaliar sua eficiência na absorção e liberação de fármacos, visando a formação de um biomaterial com potencial aplicação como um sistema carreador de fármacos.

3.2 ESPECÍFICOS

- Preparar beads poliméricos a partir de alginato e líquidos iônicos como possíveis agentes reticulantes em diferentes concentrações;
- Caracterizar os beads formados e analisar sua morfologia através de espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia Raman, microscopia eletrônica de varredura e análise termogravimétrica;
- Realizar experimentos para avaliar o perfil de intumescimento do material e sua sensibilidade ao pH;
- Realizar estudos experimentais do encapsulamento e da liberação dos fármacos indometacina e 5-fluorouracil em diferentes meios;
- Avaliar o encapsulamento e a liberação dos fármacos através da análise de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.

4 MATERIAIS E TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

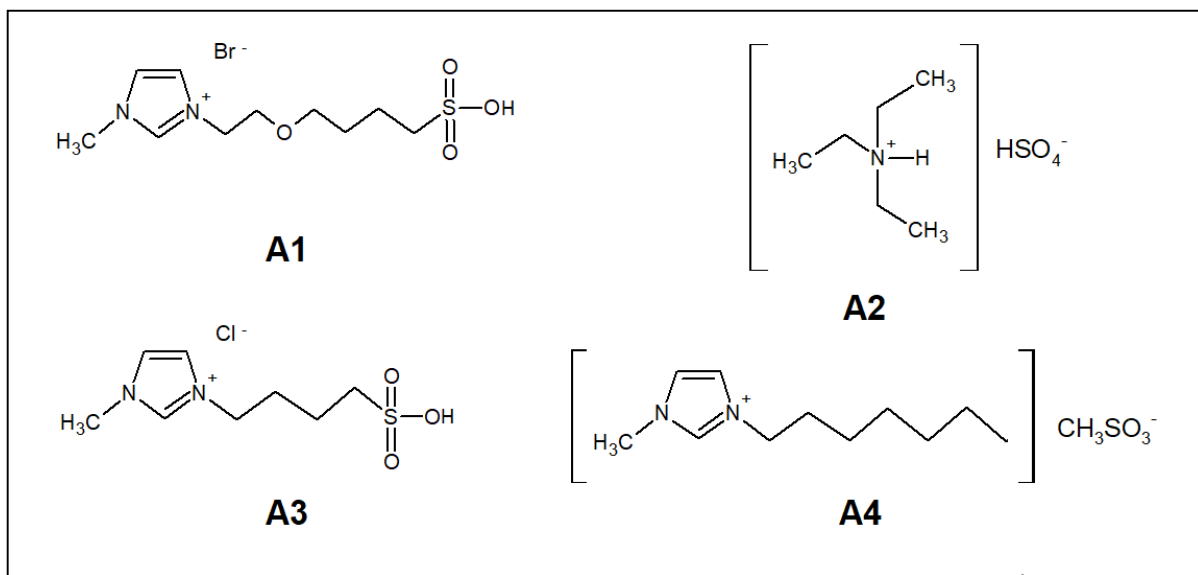
4.1 MATERIAIS E REAGENTES

Neste item, estão listados os materiais e reagentes utilizados e a sua procedência:

- Solventes: Etanol P.A. (Dinamica), acetona P.A. (Dinamica), dimetilformamida – DMF (Dinamica), hexano (Cinetica), acetato de etila P.A. (Êxodo Científica), acetonitrila (Dinamica) e água ultrapura (Millipore Corporation);
- Biopolímero: Alginato de sódio de baixa viscosidade (MM: 198,05 g/mol, Sigma Aldrich);
- Líquidos iônicos: brometo de 1-(4-etóxi-1-butanossulfonato)-3-metilimidazol (A1, MM: 262,14 g/mol), hidrogenossulfato de trietilamônio (A2, MM: 199,13 g/mol), cloreto de 1-(1-propilsulfonato)-3-metilimidazol (A3, MM: 218,11 g/mol) e metanossulfonato de 1-heptil-3-metilimidazol (A4, MM: 275,18 g/mol). Os líquidos A2, A3 e A4 foram sintetizados e cedidos pelo Grupo de Líquidos Iônicos e Metais (GLIM) do Departamento de Química e Biologia – DaQBi, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, em colaboração com o Laboratório de Terras Raras – BSTR, do Departamento de Química Fundamental, através de metodologias já aplicadas (GSCHWEND et al., 2018; AMARASEKARA; OWEREH, 2009; CASSOL, 2006). O líquido iônico A1 é inédito e foi sintetizado neste trabalho a partir da metodologia criada pelo grupo GLIM. A estrutura proposta para o líquido iônico A1 juntamente com as estruturas dos líquidos iônicos A2, A3 e A4 estão ilustradas na figura 18;
- Fármacos: 5-fluorouracil (MM: 130,07 g/mol, Sigma Aldrich) e indometacina (MM: 357,77 g/mol, Sigma Aldrich).
- Outros reagentes: 1-metil-imidazol ($C_4H_6N_2$, Sigma Aldrich), 2-bromoetanol (C_2H_5BrO , Sigma Aldrich), 1,4-butano sulfona ($C_4H_8O_3S$, Sigma Aldrich),

DMAP ou 4-dimetilaminopiridina ($C_7H_{10}N_2$), fosfato monobásico de sódio (NaH_2PO_4 , Vetec), fosfato dibásico de sódio (Na_2HPO_4 , Vetec), cloreto de sódio ($NaCl$, Vetec) e ácido clorídrico (HCl , Dinamica).

Figura 18 - Estrutura proposta para o líquido iônico A1, juntamente com as estruturas dos líquidos iônicos A2, A3 e A4.



Fonte: GSCHWEND et al., 2018; AMARASEKARA; OWEREH, 2009; CASSOL (2006).

Todos os métodos de síntese e preparação dos materiais foram realizados no Laboratório de Terras Raras BSTR – Malta/Giba do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

4.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

4.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

A técnica de espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho foi empregada para caracterizar os grupos funcionais presentes na rede polimérica dos beads formados, bem como estudar as interações que ocorreram em sua estrutura sem a presença e com a presença dos fármacos. Os espectros de absorção na região do infravermelho dos beads formados foram obtidos através do método FT-IR com acessório de UATR (Acessório Universal de Amostragem com o braço de

pressão), com as análises realizadas à temperatura ambiente. O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro com transformada de Fourier da Perkin Elmer (modelo: Spectrum 400, N° de série: 82287) na região entre 4000 e 400 cm^{-1} . A resolução espectral foi de 2 cm^{-1} e 64 acumulações. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Combustíveis (LAC) do Departamento de Engenharia Química da UFPE.

4.2.2 Espectroscopia Raman

A caracterização qualitativa dos grupos funcionais presentes na rede polimérica dos sistemas de beads formados a partir dos líquidos iônicos e do alginato foi realizada através da técnica de espectroscopia Raman. O equipamento utilizado foi o espectrômetro Ocean Optics, do modelo ERIAL QEB1284, com laser emitido a 750 nm e potência de 740 mW. Os espectros foram obtidos no Departamento de Química Fundamental da UFPE. Os dados das análises foram coletados como deslocamentos Raman na faixa de 3500-250 cm^{-1} . A espectroscopia Raman foi utilizada para a análise da estrutura dos sistemas através das bandas referentes a grupos funcionais e ligações específicas entre moléculas que vibram diante do espalhamento da luz, diferentemente da espectroscopia de infravermelho que detecta a vibração das moléculas pela absorção da radiação. Como os fenômenos são diferentes, as regras de seleção também são diferentes, permitindo obter através dos espectros Raman informações complementares na análise dos sistemas.

4.2.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN- ^1H)

A análise qualitativa da estrutura do LI A1 sintetizado conforme o método descrito no item 4.2.1., foi feita através da técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN- ^1H), a fim de confirmar a presença dos hidrogênios em ligação a partir da estrutura proposta para o LI. O equipamento utilizado foi o espectrômetro Agilent 300 MHz VNMRS 300, onde as análises foram realizadas em D_2O (99%, Aldrich), sob 27° C, no Departamento de Química Fundamental da UFPE. Os

valores dos deslocamentos químicos foram expressos em partes por milhão (ppm).

4.2.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

As medidas de avaliação da estabilidade térmica foram determinadas via análise termogravimétrica a partir dos perfis das curvas de TGA e DTA obtidas em um analisador termogravimétrico da Shimadzu, modelo TGA 60/60H utilizando porta amostra de alumina, fluxo de 100 mL/min de N₂ (atmosfera inerte), com taxa de aquecimento de 10 °C/min até 600°C. As medidas foram realizadas no Laboratório de Terras Raras – BRTR/Giba do Departamento de Química Fundamental da UFPE.

4.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das amostras dos beads obtidos foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Primeiramente, os beads foram liofilizados para retirada de toda a água presente em sua estrutura, e depois foram levados para análise por MEV. As amostras foram previamente fixadas a um pedaço de fita adesiva dupla face de carbono apoiada sobre um suporte metálico. As imagens de MEV foram obtidas no Laboratório de Terras Raras – BSTR/Lumi, do Departamento de Química Fundamental da UFPE, usando um microscópio da TESCAN, modelo MIRA 3, com voltagem de 10 kV.

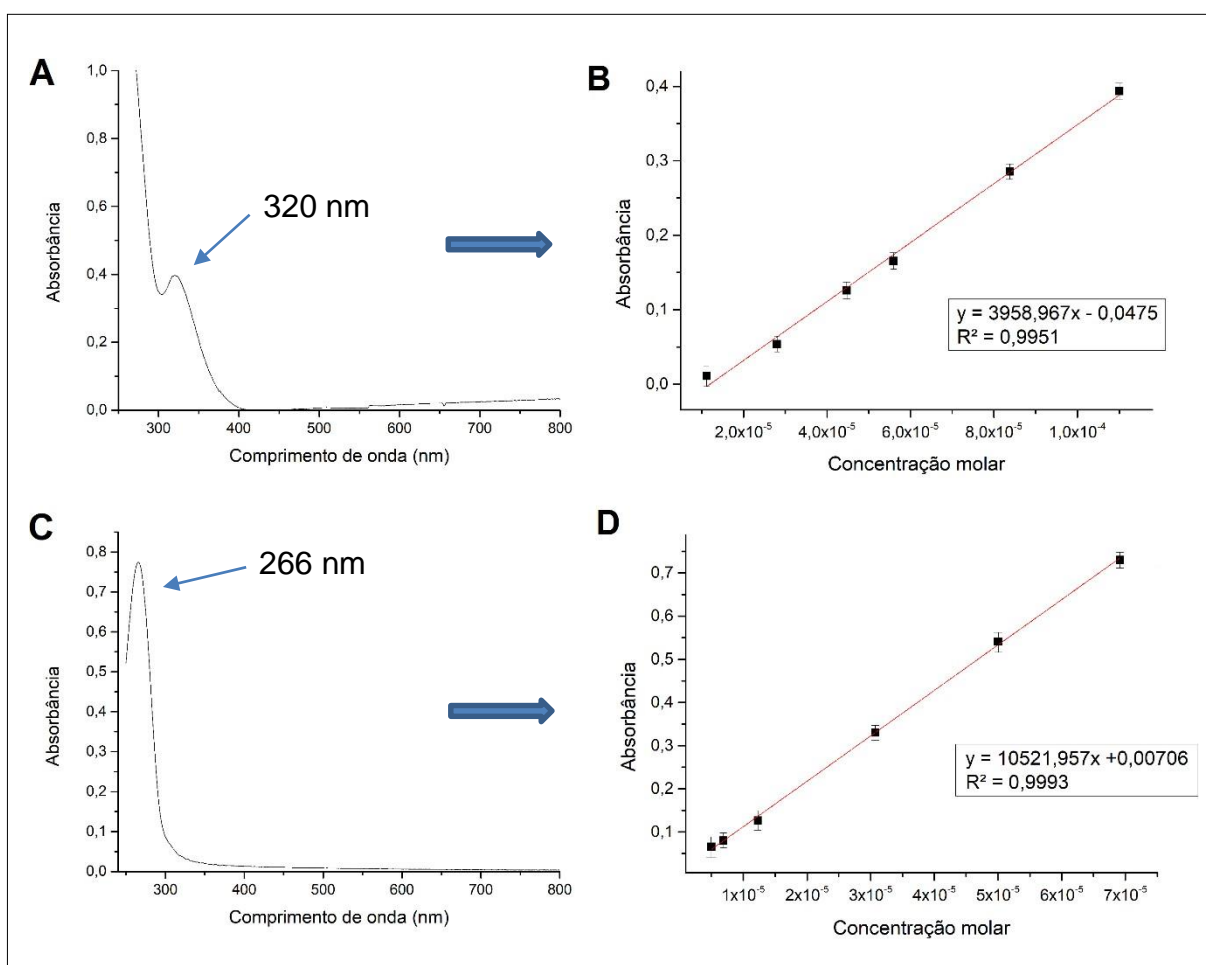
4.2.6 Espectroscopia de absorção UV-Vis

Os espectros de absorção na região do Ultravioleta-Visível das amostras foram obtidos para construção das curvas de calibração dos fármacos (figura 19) e para a determinação da concentração dos fármacos encapsulados nos sistemas e liberados nos meios específicos. A análise foi realizada no Departamento de Química Fundamental da UFPE. O equipamento utilizado para obtenção dos espectros de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) foi o espectrofotômetro UV-Visível do modelo UV-2600 da empresa Shimadzu, operando na faixa de (1400-185 nm), com

lâmpada de deutério (D₂) e halogênio tungstênio (WI). O software Scan Lambda 650 foi utilizado para fornecer os comandos operacionais do equipamento e projeção dos resultados e as análises foram feitas na faixa de comprimento de onda de 800-250 nm.

Uma vez que os componentes da rede polimérica dos beads (alginato e os líquidos iônicos) não absorvem na mesma região que os fármacos, foi possível identificar e determinar a absorbância dos mesmos no comprimento de onda de absorção máxima para a construção das curvas de calibração. Desta forma, foram obtidas as respectivas equações das retas, que possibilitaram o cálculo para determinação da concentração dos fármacos nos testes de encapsulamento e liberação.

Figura 19 - Espectros de absorção no UV-Vis da indometacina (A) e do 5-fluorouracil (C); Curvas de calibração contruídas para a indometacina (B) e o 5-fluorouracil (D).



Fonte: A autora (2020).

5 LÍQUIDO IÔNICO A1

O líquido iônico A1 (brometo de 1-(4-etóxi-1-butanossulfonato)-3-metilimidazol) é inédito, sendo sintetizado e caracterizado neste trabalho para a aplicação no desenvolvimento dos beads, ao passo que os outros líquidos iônicos A2 (hidrogenossulfato de trietilamônio), A3 (cloreto de 1-(1-propilsulfonato)-3-metilimidazol) e A4 (metanossulfonato de 1-heptil-3-metilimidazol) foram cedidos pelo Laboratório GLIM (Grupo de Líquidos Iônicos e Metais) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, conforme citado no item 4.1. Neste capítulo, é apresentado o método experimental criado pelo grupo GLIM para a realização da síntese do líquido iônico A1, o qual foi utilizado neste trabalho, juntamente com a análise morfológica da sua estrutura química através da utilização de técnicas de caracterização.

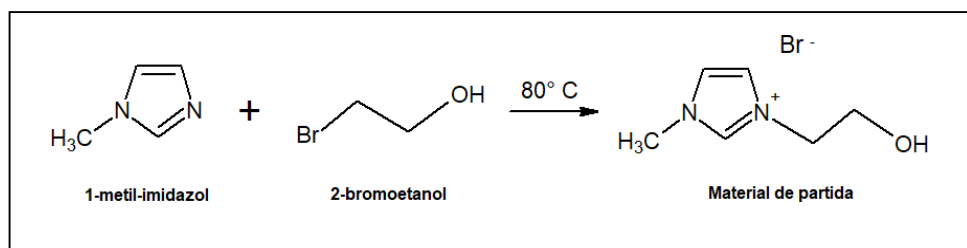
5.1 SÍNTESE DO LÍQUIDO IÔNICO A1

A síntese do líquido iônico A1 foi realizada em duas etapas, conforme a metodologia criada pelo grupo de pesquisa GLIM. A primeira etapa consistiu na síntese do material de partida, conforme o esquema ilustrado na figura 20. Em um balão de fundo redondo equipado com um condensador de refluxo e um agitador magnético, foram adicionados 50 mmol de 1-metil-imidazol e 50 mmol de 2-bromoetanol. A mistura dos reagentes foi mantida sob agitação a 80° C, durante 16 h. Após este tempo, foi adicionado acetato de etila com agitação para formação de uma mistura de duas fases e separação do material de partida, o qual representa a fase mais densa. Este procedimento foi realizado três vezes e depois o material foi levado para o rotaevaporador para retirar os restos de solvente presente.

Na segunda etapa da síntese, que resulta na formação do líquido iônico demonstrado no esquema da figura 21, 10 mmol do material de partida formado foram adicionados a um balão de fundo redondo, da mesma forma que na primeira etapa, juntamente com 10 mmol de 1,4-butano sulfona, 5 mL de acetonitrila e 0,10 g de DMAP (usado como catalisador numa proporção de 5% da massa utilizada do material de partida). A mistura foi submetida a 80° C, sob agitação, durante 16 h e, em seguida, foi adicionado acetato de etila para formação de uma mistura de duas fases e

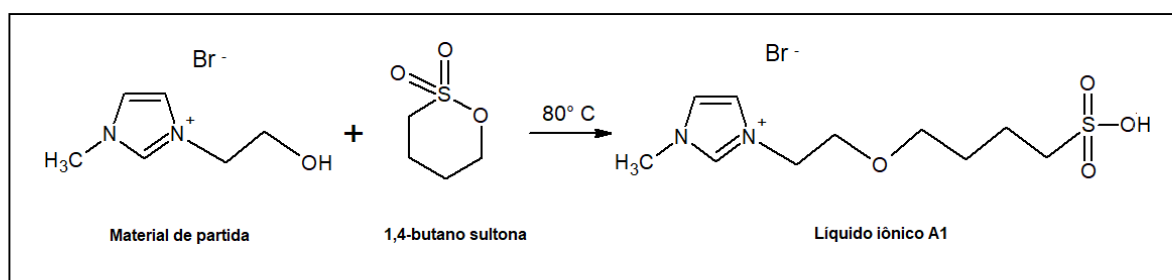
separação do líquido iônico sintetizado, o qual representa a fase mais densa na mistura, com a adição e separação sendo realizada três vezes como no caso da síntese do material de partida. No final, o líquido iônico foi obtido no balão após remoção dos restos de solvente no rotaevaporador.

Figura 20 - Esquema de síntese do íon do material de partida.



Fonte: A autora (2020).

Figura 21 - Esquema de síntese do líquido iônico A1, a partir do material do partida.



Fonte: A autora (2020).

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO LÍQUIDO IÔNICO A1 SINTETIZADO

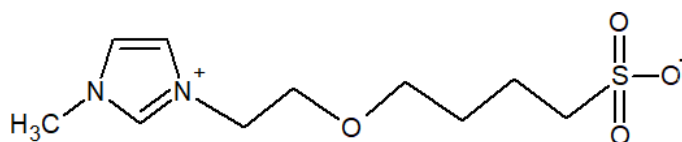
O líquido iônico (LI) A1 sintetizado foi caracterizado através das análises de espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR), de Raman e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H) a fim de permitir o estudo da sua estrutura e comprovar a metodologia utilizada na síntese.

5.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

Através do espectro de infravermelho obtido para o LI A1, mostrado na figura 23, foi possível analisar a estrutura do LI A1 sintetizado conforme o item 4.2.1. Analisando a estrutura proposta para o LI A1 demonstrada na figura 18, além da estrutura proposta para sua possível forma iônica dissociada em água (zwitterion)

mostrada na figura 22, foi possível atribuir as bandas obtidas no espectro aos grupos funcionais presentes nas cadeias do LI. As bandas que aparecem em 1565 e 1635 cm^{-1} são atribuídas aos grupos C=C e C=N de cadeias aromáticas, respectivamente, presentes no grupo imidazol da estrutura do LI. Também referentes ao grupo imidazol, as bandas em 3110, 3155 e 1250 cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos dos dois grupos C-H e do grupo C-N, respectivamente, os quais são, neste caso, característicos de cadeias aromáticas (PAVIA et al., 2010). As bandas presentes em aproximadamente 720 cm^{-1} podem se referir à deformação angular de cadeias alquílicas, que ocorrem em grupos $(\text{CH}_2)_n$ para $n > 3$, já que na cadeia do LI A1 há uma sequência de 4 grupos metileno ao longo da estrutura.

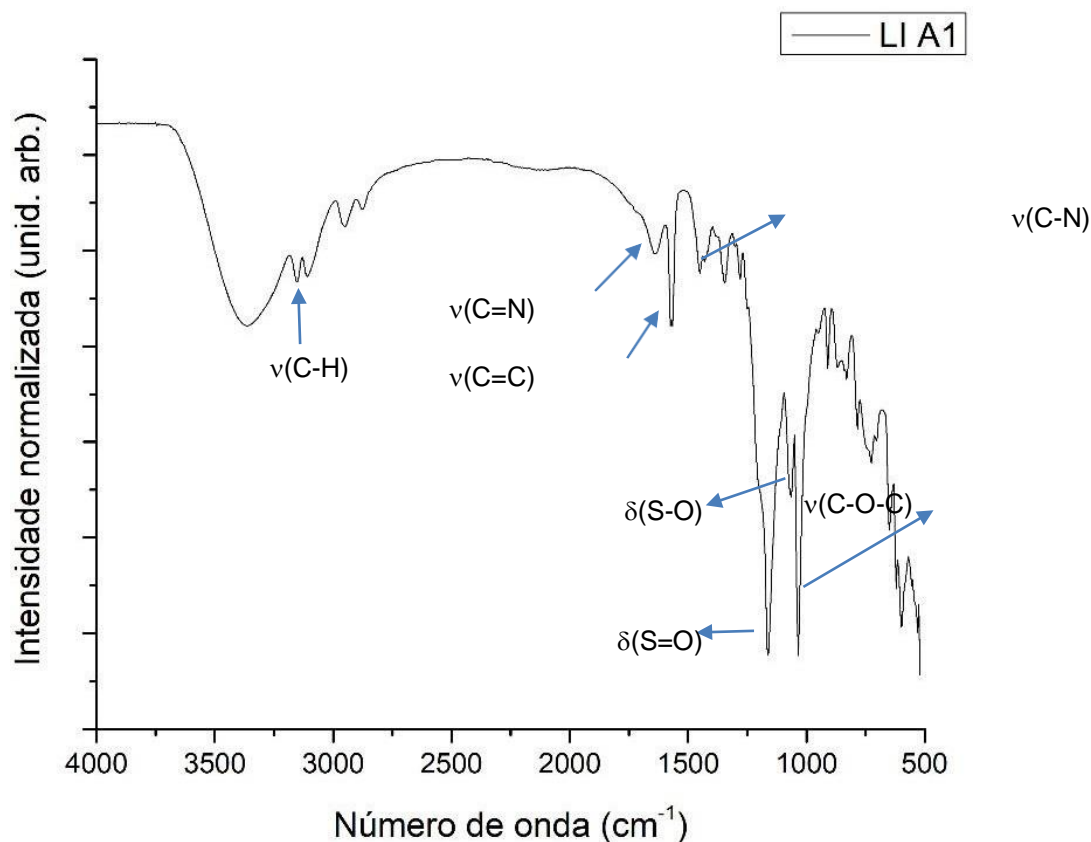
Figura 22 - Estrutura proposta para o LI A1 na sua forma iônica dissociada em meio aquoso.



Fonte: A autora (2020).

As deformações vibracionais de grupos S=O e H₂C-S em sulfóxidos, por exemplo, geralmente são vistas no espectro como bandas que aparecem entre 1040 e 1200 cm^{-1} , conforme Johannes Kiefer, Juergen Fries e Alfred Leipertz (KIEFER, J.; FRIES, J.; LEIPERTZ, A., 2007). Nota-se no espectro da figura 28, uma banda evidente em 1160 cm^{-1} e outra mais fraca em 1070 cm^{-1} , as quais podem ser atribuídas ao grupos S=O e S-O, respectivamente. Também é possível perceber a presença de uma banda forte que aparece em 1035 cm^{-1} , provavelmente associada ao estiramento da ligação alquil-éter C-O-C, que geralmente aparece nesta região de número de onda. Desta forma, pode-se confirmar a presença dos grupos funcionais presentes no LI A1 através das bandas presentes no espectro de infravermelho obtido.

Figura 23 - Espectro de infravermelho do líquido iônico A1 sintetizado.

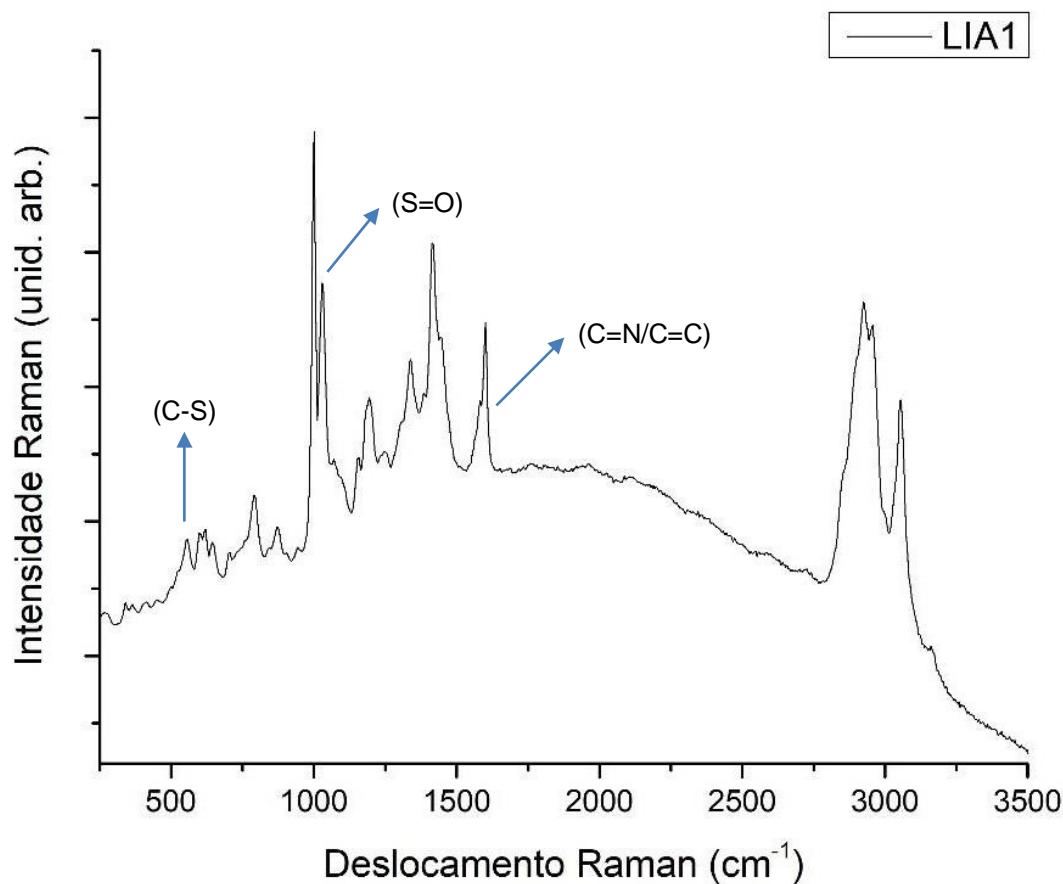


Fonte: A autora (2020).

5.2.2 Espectroscopia Raman

O espectro Raman foi obtido para o LI A1 sintetizado neste trabalho, conforme mostrado na figura 24, a fim de confirmar a presença de grupos funcionais específicos comentados no item 5.3.1. Analisando as bandas formadas, nota-se nos deslocamentos Raman em 1033 e 1116 cm^{-1} duas bandas intensas que podem ser atribuídas ao estiramento dos grupos S=O, enquanto em 1600 cm^{-1} aparece uma banda referente às ligações de C=N/C=C do grupo imidazol presente na estrutura do LI (LESTARD et al., 2012; LAMBERT, 1987). Outras bandas confirmam a estrutura proposta para o LI A1, como a banda formada em 616 cm^{-1} associada ao estiramento da ligação C-S, e a banda em 996 cm^{-1} que pode se referir aos grupos C-O-C, conforme comprovado pelo espectro de infravermelho obtido (SMITH; DENT, 2005).

Figura 24 - Espectro Raman obtido para o LI A1 sintetizado.

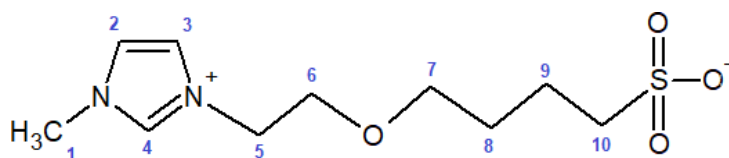


Fonte: A autora (2020).

5.2.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H)

Como o LI A1 foi sintetizado neste trabalho, foi realizada a análise de RMN-¹H para confirmar a sua estrutura diante dos prótons dispostos na cadeia carbônica. Na figura 25, é demonstrada a estrutura proposta para o LI A1 dissociado com os carbonos numerados:

Figura 25 - Estrutura proposta para o líquido iônico A1 sintetizado, com a numeração dos carbonos em azul.



Fonte: A autora (2020).

A partir do espectro de RMN- ^1H em D_2O obtido, conforme a figura 26 e as ampliações nas figuras 27, 28 e 29, tem-se a presença de vários sinais evidentes. Nos deslocamentos químicos de 3,96 e 8,8 ppm, são mostrados singletos que são referentes aos hidrogênios $\text{H}(\text{C}_1)$ e $\text{H}(\text{C}_4)$, respectivamente, com o $\text{H}(\text{C}_4)$ mais desblindado por conta da influência dos dois átomos de nitrogênio ao redor. Os sinais dos hidrogênios $\text{H}(\text{C}_2)$ e $\text{H}(\text{C}_3)$ aparecem com deslocamento um pouco menor, sob a influência de apenas um átomo de nitrogênio, aparecendo como singletos muito próximos, com deslocamentos de 7,57 e 7,52 ppm, respectivamente. Isto também foi observado anteriormente por Talita Jordanna, em um trabalho realizado pelo grupo BSTR em parceria com o grupo GLIM (RAMOS, 2018).

Os hidrogênios mais próximos do oxigênio referente ao grupo funcional éter, $\text{H}(\text{C}_6)$ e $\text{H}(\text{C}_7)$, aparecem como tripletos, com deslocamentos de 4,68 e 4,40 ppm, respectivamente, sendo o $\text{H}(\text{C}_6)$ mais desblindado. Já o tripleto referente ao hidrogênio mais próximo do grupo SO_3^- aparece com deslocamento químico de 2,90 ppm, característico dos hidrogênios ligados ao grupo $(-\text{CH}_2-\text{S}-)$, conforme Paula Yurkanis Bruice, acoplando apenas com os hidrogênios do carbono 9 (BRUICE et al., 2004).

Figura 26 - Espectro de RMN- ^1H obtido para o líquido iônico A1 sintetizado.

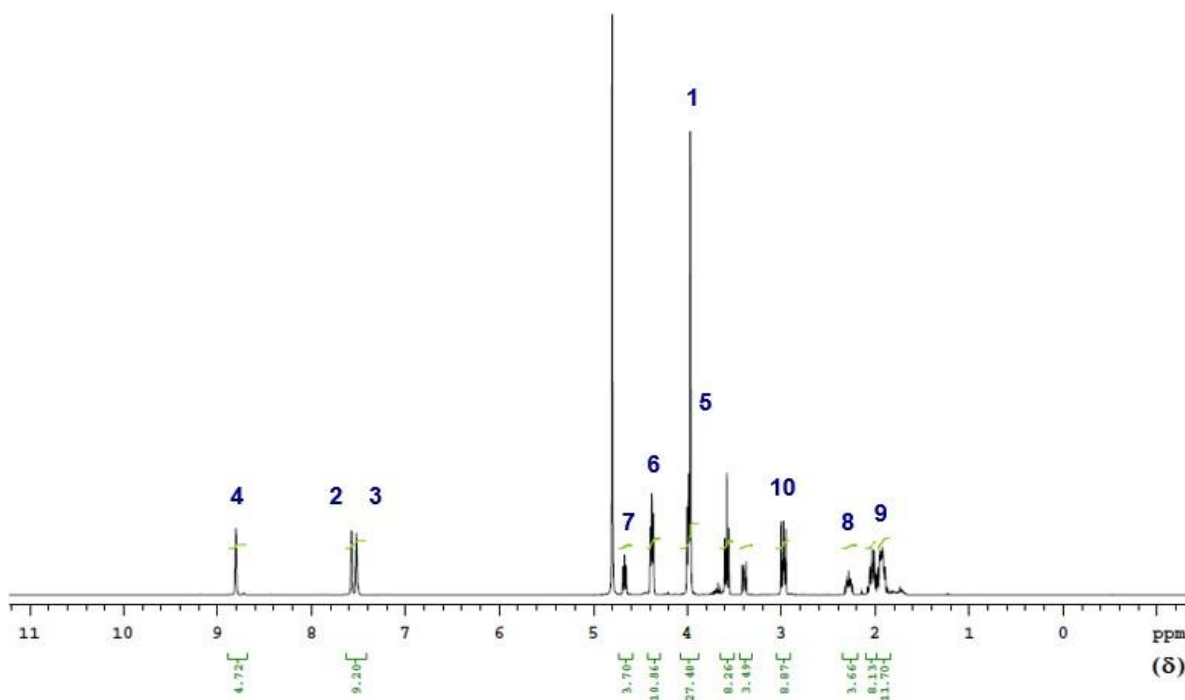
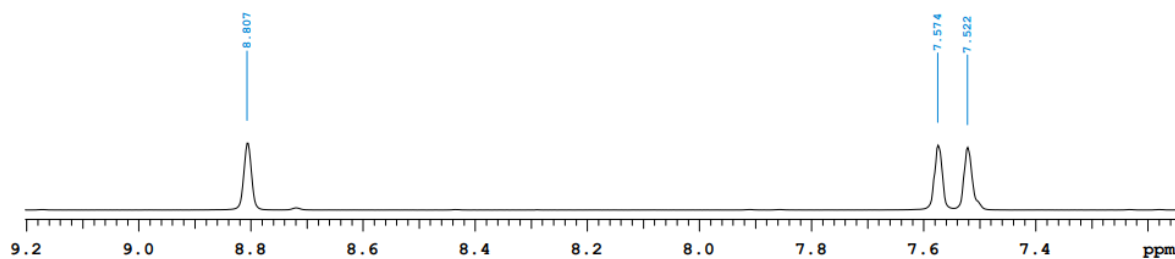
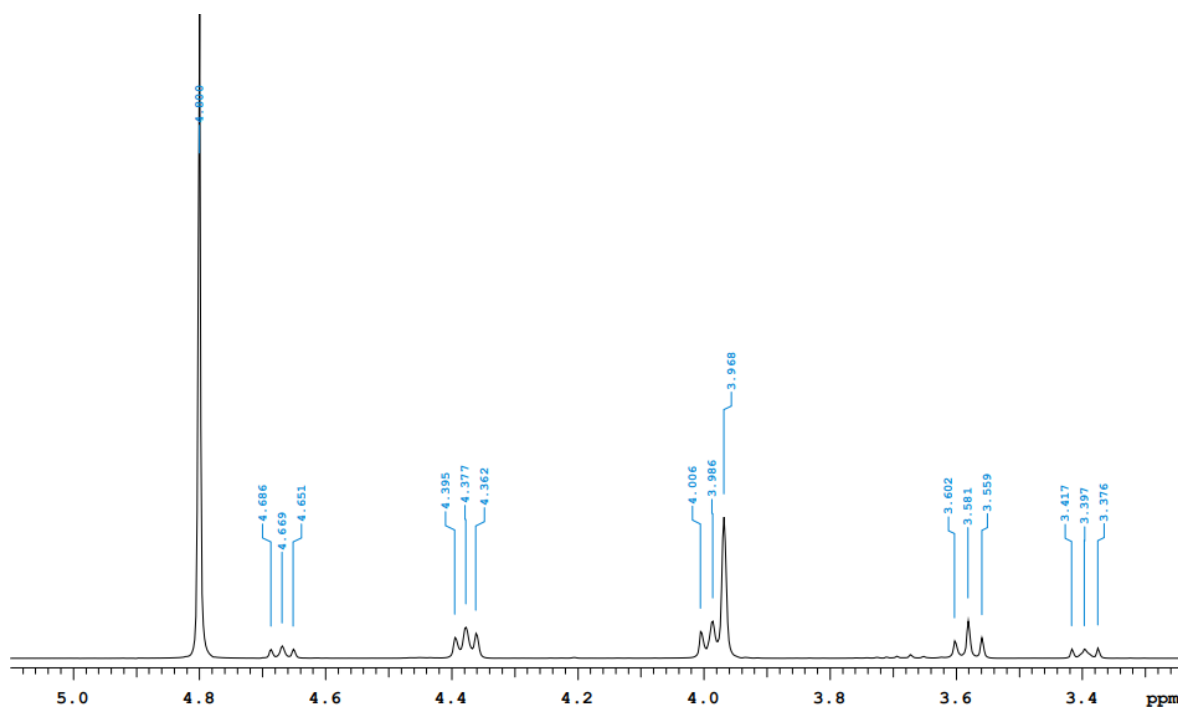


Figura 27 - Ampliação do espectro de RMN ^1H para a faixa de deslocamento químico entre 7,4 e 9,2 ppm.



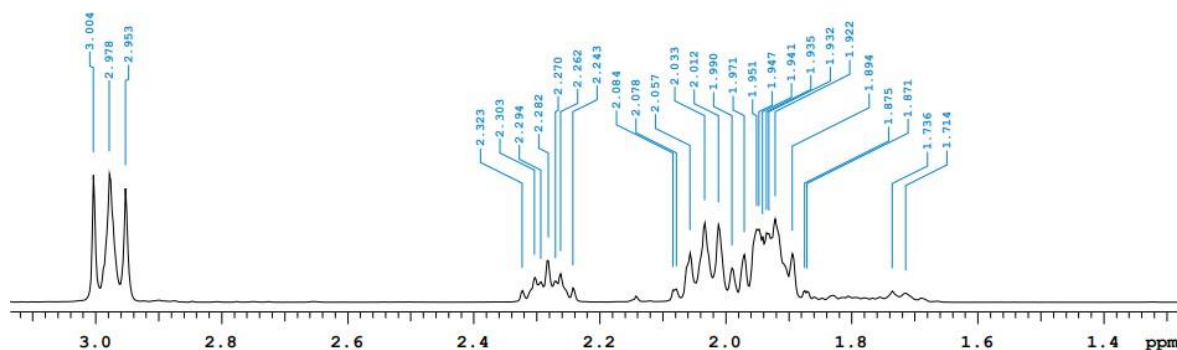
Fonte: A autora (2020).

Figura 28 - Ampliação do espectro de RMN ^1H para a faixa de deslocamento químico entre 3,4 e 5,0 ppm.



Fonte: A autora (2020).

Figura 29 - Ampliação do espectro de RMN ^1H para a faixa de deslocamento químico entre 1,4 e 3,0 ppm.



Fonte: A autora (2020).

Os multipletos que aparecem com deslocamentos de 2,29 e 2,00 ppm são atribuídos aos hidrogênios $\text{H}(\text{C}_8)$ e $\text{H}(\text{C}_9)$, respectivamente, já que os dois acoplam com os hidrogênios vizinhos e um com o outro, formando um sinal multipeto. O sinal de $\text{H}(\text{C}_8)$ apresenta um deslocamento um pouco maior por conta da influência do oxigênio mais próximo da ligação. O hidrogênio $\text{H}(\text{C}_5)$ aparece como um tripleto com deslocamento químico de 4,00 ppm, valor muito próximo ao obtido para o $\text{H}(\text{C}_1)$, o que resultou numa sobreposição de sinais.

Os tripletos que aparecem com deslocamentos de 3,60 e 3,40 ppm podem se referir aos hidrogênios dos carbonos do bromoetanol, conforme Dahmen J. et al., proveniente da reação de formação do material de partida, o qual pode estar aparecendo como restos de reagente usado em excesso na amostra obtida do LI (DAHMEN, J. et al., 1983). Estes sinais também podem se referir a possíveis impurezas presentes nos reagentes utilizados na primeira e na segunda etapas da síntese do LI. Contudo, é evidente que foi possível identificar os hidrogênios presentes na estrutura do LI A1 através dos sinais obtidos no espectro de RMN- ^1H , demonstrando que esta análise contribuiu para a confirmação da estrutura do LI sintetizado.

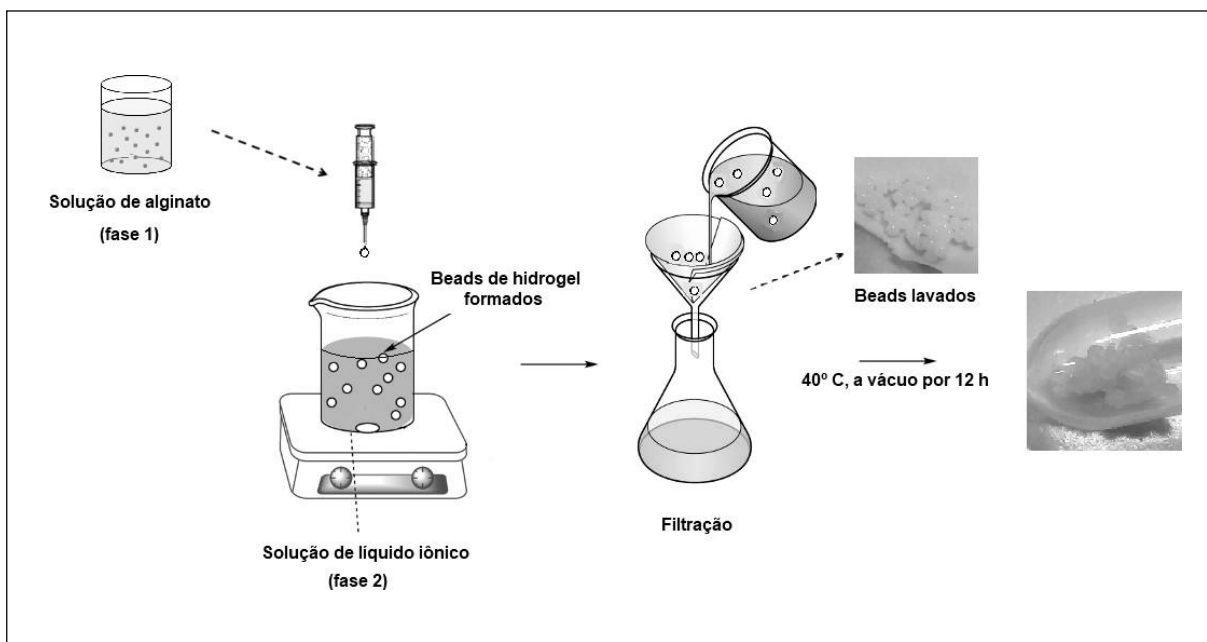
6 BEADS DE HIDROGEL À BASE DE ALGINATO E LÍQUIDOS IÔNICOS

Este capítulo descreve o método de preparação dos beads de hidrogel baseados em alginato e líquidos iônicos como agentes reticulantes, bem como a análise da sua morfologia e estrutura através de testes de estabilidade e técnicas de caracterização. Também são demonstrados estudos do perfil de intumescimento e de sensibilidade ao pH feitos para os beads obtidos na preparação, a fim de avaliar sua viabilidade em meios que simulam regiões específicas do sistema gastrointestinal.

6.1 MÉTODO EXPERIMENTAL: PREPARAÇÃO DOS BEADS

Primeiramente, foi preparada uma solução de 1 mL de alginato de sódio a 5% (m/v) em água ultrapura (fase 1), a qual foi mantida sob agitação durante 15 minutos para retirada de bolhas. Em outro recipiente, foi preparada uma solução de 2 mL do líquido iônico A1 a 25% (m/v) em água ultrapura (fase 2). No processo de formação dos beads, o líquido iônico foi utilizado como possível agente reticulante da rede polimérica. A preparação dos beads foi realizada pelo gotejamento da fase 1 na fase 2 através de uma seringa plástica de 1 mL equipada com uma agulha de diâmetro 0.8 mm, à temperatura ambiente. A velocidade de gotejamento manual foi de aproximadamente 0,0055 mL/s ou 1 gota a cada 4,5 s. Este procedimento foi repetido para os líquidos iônicos A2, A3 e A4. Os beads formados foram mantidos na mistura por 5 h. Em seguida, os beads foram lavados com água e foram secos a 40° C, a vácuo, durante 12 h, através da adaptação da metodologia descrita por Qianmin Mab e Qianming Wanga (MA; WANG, 2015). Os beads também foram preparados utilizando soluções de líquido iônico a 50% e a 75% em água, além de terem sido usados puros, para avaliação da mudança das suas propriedades com o aumento da concentração dos líquidos. Todo o método de preparação dos beads foi ilustrado na figura 30.

Figura 30 - Ilustração do método de preparo dos beads de hidrogel encapsulados com fármacos.



Fonte: A autora (2020).

6.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA DOS BEADS

Os procedimentos experimentais de preparação dos beads foram realizados para os líquidos iônicos A1, A2, A3 e A4. Os líquidos iônicos A1 e A2 formaram beads no processo de interação com as cadeias de alginato (podendo indicar uma reticulação), no qual a rede polimérica esférica foi formada imediatamente ao entrar em contato com a fase dos líquidos, tanto sem a presença dos fármacos quanto com a presença dos mesmos. Já o gotejamento da solução de alginato nos líquidos iônicos A3 e A4 resultou em gotículas que se dissolveram imediatamente ao entrar em contato com os líquidos iônicos, o que será discutido em itens posteriores. Na figura 31, são demonstrados os beads formados pelos líquidos iônicos A1 (sistema beads/A1) e A2 (sistema beads/A2).

Figura 31 - Beads formados a partir dos líquidos iônicos A1 e A2 a 25%.



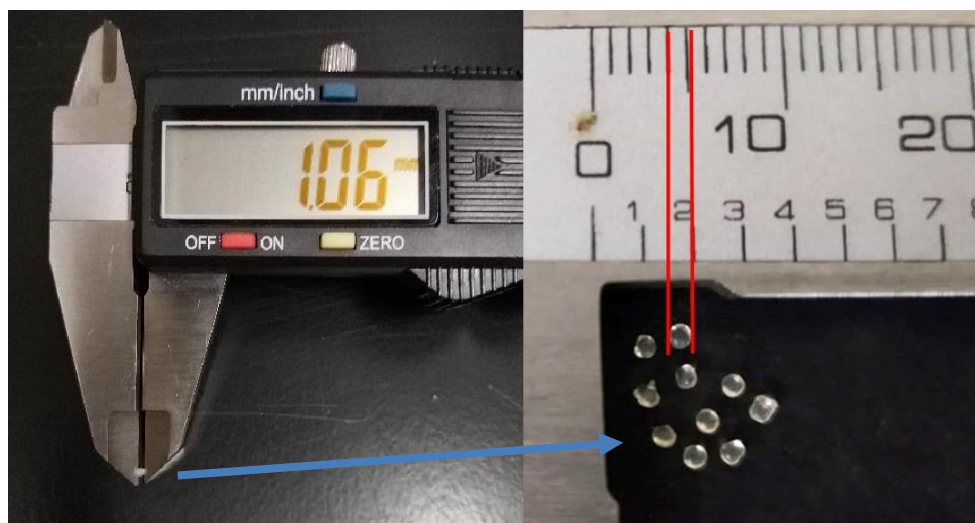
Fonte: A autora (2020).

Os beads obtidos depois de secos apresentaram uma distribuição de tamanho de aproximadamente 1,06 mm de diâmetro, variando entre 0,62 mm e 1,50 mm, medidos com um paquímetro digital, conforme a figura 32. Antes de secos, os beads foram obtidos com tamanho de diâmetro de aproximadamente 4 mm, reduzindo em até 90% o seu tamanho após a secagem a vácuo.

Os beads formados nas concentrações dos líquidos iônicos A1 e A2 a 25%, 50% e 75% apresentaram uma variação na firmeza com a variação da concentração, a qual foi testada através de toque com uma espátula. A 25% de líquido iônico, os beads eram mais gelatinosos, com uma superfície suave, enquanto que a 50% e 75% era possível notar os beads mais firmes e resistentes. Comparando os resultados para as concentrações de 50% e 75%, os beads foram obtidos com uma firmeza e textura semelhante.

Porém, a 75%, os beads foram obtidos num formato esférico irregular, diferentemente dos beads a 25% e 50% que foram obtidos como esferas perfeitas. Isto pode ser explicado pela alta viscosidade da solução de líquido iônico a altas concentrações, a qual pode interferir na interação entre as cadeias no momento do contato com as gotículas, fazendo com que as mesmas interajam com mais dificuldade. As figuras 33 e 34 demonstram os beads/A2 antes de serem secos a vácuo, no momento da preparação, e os beads/A1 secos formados em diferentes concentrações, respectivamente.

Figura 32 – À esquerda, tamanho aproximado do diâmetro dos beads formados depois de secos; À direita, diâmetro dos beads depois de secos medido com régua (a menor divisão da escala de medida é de 1 mm).



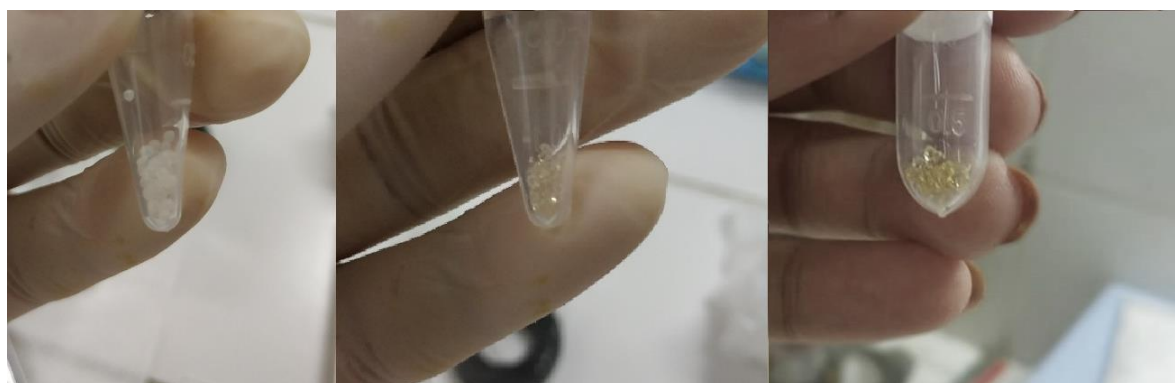
Fonte: A autora (2020).

Figura 33 – Beads/A2 formados antes de serem secos.



Fonte: A autora (2020).

Figura 34 - Da esquerda para a direita: beads/A1 com líquido iônico A1 a 25%, 50% e 75%, depois desecos.



Fonte: A autora (2020).

No encapsulamento dos fármacos, foram preparados apenas os beads dos líquidos iônicos A1 e A2 com os líquidos iônicos a 50%, os quais demonstraram melhor forma diante das concentrações testadas. Os beads formados apresentaram mesma distribuição de tamanho e mesma morfologia externa que os beads formados sem a presença do fármaco.

6.3 TESTE DE ESTABILIDADE EM SOLVENTES

Os sistemas beads/A1 e beads/A2 com os líquidos iônicos a 50% foram imersos em tubos de ensaio contendo os solventes etanol, acetona, DMF e hexano, para testes de estabilidade e interação do material com o meio. Os sistemas foram mantidos fechados por 28 dias, à temperatura ambiente. Após este tempo, foi realizada uma análise visual da superfície e do tamanho dos beads nos quatro sistemas.

Durante os 28 dias mantidos na presença dos solventes, sob as condições descritas, os beads com os dois líquidos iônicos demonstraram ser estáveis aos solventes etanol, acetona, DMF e hexano. Após terem sido tirados dos sistemas, os beads/A2 demonstraram ter intumescido e absorvido os solventes etanol e DMF, enquanto os beads/A1 demonstraram não absorver nenhum dos solventes, o que foi perceptível pela diferença de tamanho dos beads antes e após o experimento, notada visualmente. Porém, nenhum dos beads foi dissolvido ou degradado durante o período dos 28 dias.

Na presença de acetona e hexano, tanto os beads/A1 quanto os beads/A2 não apresentaram diferença em sua morfologia externa, além de permanecerem firmes e resistentes. Isto demonstra que solventes apolares de cadeia longa não são absorvidos pela rede, e que os beads apresentaram uma relativa estabilidade aos solventes testados, dentre os quais tem-se solventes próticos e apróticos, polares e apolares. A figura 35 demonstra o sistema beads/A1, por exemplo, submetidos à presença dos solventes no início do experimento.

Figura 35 - Beads/A1 na presença dos solventes etanol, acetona, DMF e hexano.



Fonte: A autora (2020).

6.4 CARACTERIZAÇÃO DOS BEADS FORMADOS

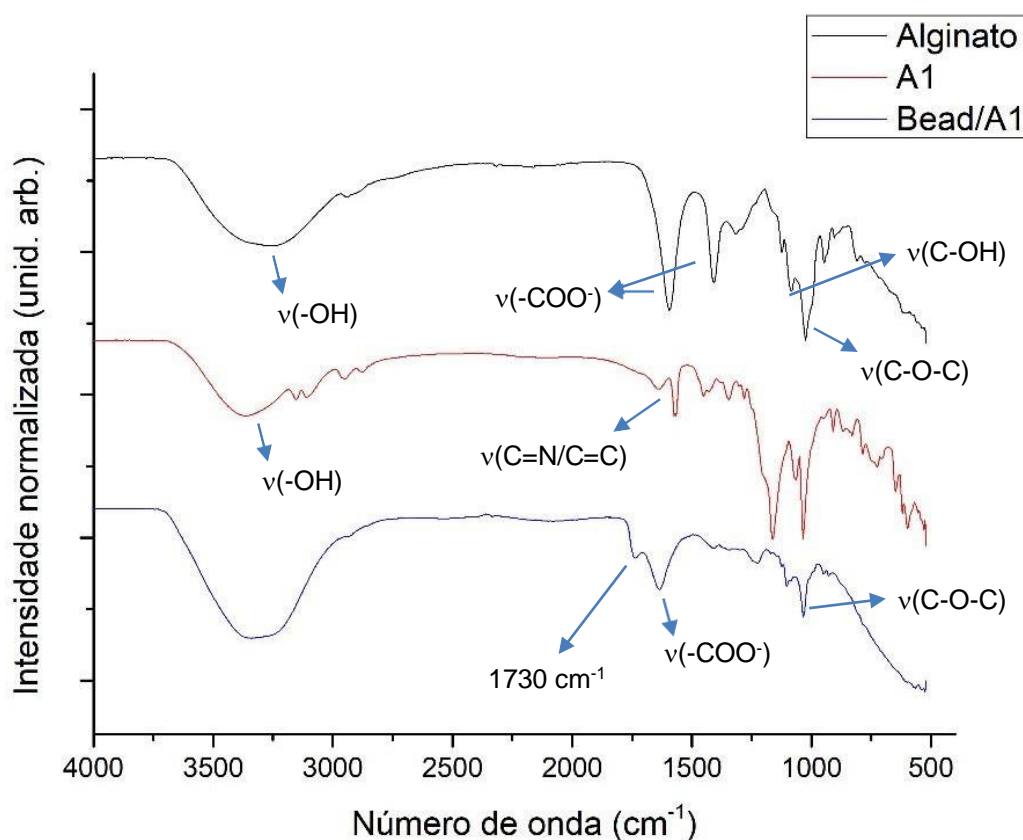
Os sistemas beads/A1 e beads/A2 formados foram caracterizados através das técnicas de espectroscopia de infravermelho (FT-IR), de Raman, de Análise Termogravimétrica (TGA) e de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para permitir a análise morfológica dos sistemas obtidos e a compreensão da configuração da rede tridimensional polimérica formada nos materiais.

6.4.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

Para a análise da estrutura do sistema beads/A1 através do espectro de infravermelho, foram comparados os espectros obtidos do alginato de sódio e do LI A1 sintetizado como agente reticulante, conforme a figura 36. Primeiramente, analisando o espectro do alginato de acordo com a sua estrutura mostrada na figura 37, tem-se a presença de duas bandas fortes e evidentes em 1590 e 1410 cm^{-1}

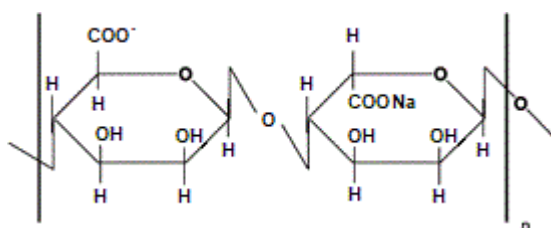
referentes aos estiramentos assimétrico e simétrico dos grupos carboxilato ($-\text{COO}^-$), respectivamente, presentes em sua cadeia. Os estiramentos da ligação alquil-éter C-O-C podem ser vistos através da banda que aparece em 1035 cm^{-1} , da mesma forma que no espectro obtido para o LI A1, demonstrado no item 5.2.1. A banda fraca vista em 1085 cm^{-1} se refere aos grupos C-OH presentes na estrutura do alginato (MA; WANG, 2015).

Figura 36 - Espectro de infravermelho do sistema beads/A1, juntamente com o alginato e o líquido iônico A1.



Fonte: A autora (2020).

Figura 37 - Estrutura do alginato de sódio (Adaptado de SOUZA; PERALTA-ZAMORA; ZAWADZKI, 2008).



Fonte: Adaptado de SOUZA; PERALTA-ZAMORA; ZAWADZKI (2008).

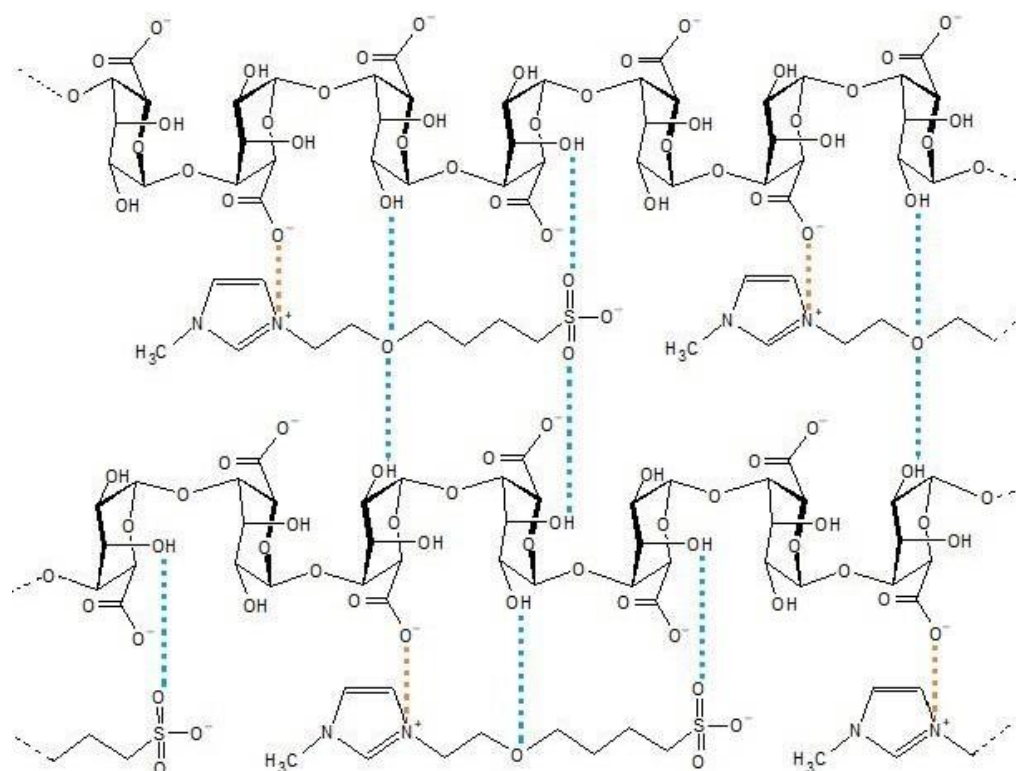
Ao comparar-se os espectros do alginato, do LI A1 e do sistema beads/A1 proveniente da interação entre os dois, é possível notar algumas bandas características geradas após o processo de formação da rede tridimensional do bead. Analisando o espectro do sistema beads/A1, nota-se a presença de uma banda um pouco larga em 1640 cm^{-1} que pode ser atribuída ao deslocamento da banda referente ao estiramento dos grupos carboxilato do alginato presente em 1590 cm^{-1} , juntamente com a sobreposição das bandas referentes aos grupos C=N/C=C de aromáticos do LI A1, já que estes grupos absorvem no mesmo número de onda da região do infravermelho. Isto indica possíveis interações com estes grupos. Houve a formação de uma pequena banda em 1730 cm^{-1} , que, conforme observado por Chao Feng et al., pode ser referente à protonação dos grupos carboxilato do alginato formando grupos de ácido carboxílico ou a algum tipo de interação que estabiliza o carboxilato, gerando bandas específicas entre 1700 e 1750 cm^{-1} (FENG et al., 2014). Isto demonstra que os grupos carboxilato presentes na cadeia do alginato podem ter interagido ionicamente com o grupo imidazol positivo da cadeia do LI A1, estabilizando-o e formando a banda em 1730 cm^{-1} .

A banda referente aos grupos da ligação alquil-éter que aparece tanto no espectro do alginato quanto no do LI, também aparece no espectro do sistema beads/A1, confirmando que a formação da rede tridimensional não interferiu na presença deste grupo. Uma mudança observada é o aumento da intensidade da banda referente aos grupos -OH do alginato em 3300 cm^{-1} no espectro do sistema beads/A1. Isto pode ser atribuído a interações como pontes de hidrogênio entre os grupos -SO_3 presentes no LI e as hidroxilas presentes no alginato. Outra evidência, é o deslocamento da banda dos grupos C-OH do alginato de 1085 cm^{-1} para 1100 cm^{-1} no espectro do sistema beads/A1, que também demonstra possíveis interações entre as hidroxilas e o LI.

Possivelmente, também podem ocorrer pontes de hidrogênio entre o oxigênio do grupo alquil-éter presente no LI A1 e as hidroxilas do alginato, devido ao fato de que o LI A3 apresenta uma estrutura muito parecida com o LI A1 (com exceção dos grupos alquil-éter e dois grupos metileno, conforme a figura 18) mas não formou beads quando entrou em contato com o alginato que foi gotejado, conforme comentado no item 6.2, ou seja, não houve reticulação neste caso.

Como visto, o LI A4 também não formou beads, apesar de apresentar uma estrutura muito parecida com os LIs A1 e A3. Estes três líquidos contêm a presença do grupo SO_3 , mas a ausência do oxigênio do grupo alquil-éter na estrutura dos líquidos A3 e A4 faz com que não haja formação de mais pontes de hidrogênio para estabilizar a rede polimérica. Isto pode demonstrar que o LI A1 atua como um agente reticulante na formação de beads de hidrogel com cadeias de alginato, através de interações iônicas com os grupos imidazol positivos e os grupos carboxilato, além de realizar pontes de hidrogênio dos grupos $-\text{OH}$ do alginato com os grupos SO_3 e, principalmente, com os grupos C-O-C presentes em sua estrutura. Com estes resultados, foi possível propor a configuração para uma possível reticulação iônica entre o LI A1 e o alginato, como visto através da figura 38, representando uma atuação inédita para os líquidos iônicos.

Figura 38 - Configuração proposta para a reticulação iônica do LI A1 com o alginato de sódio disposto em blocos G-G. As interações iônicas são dadas em laranja e as pontes de hidrogênio em azul.

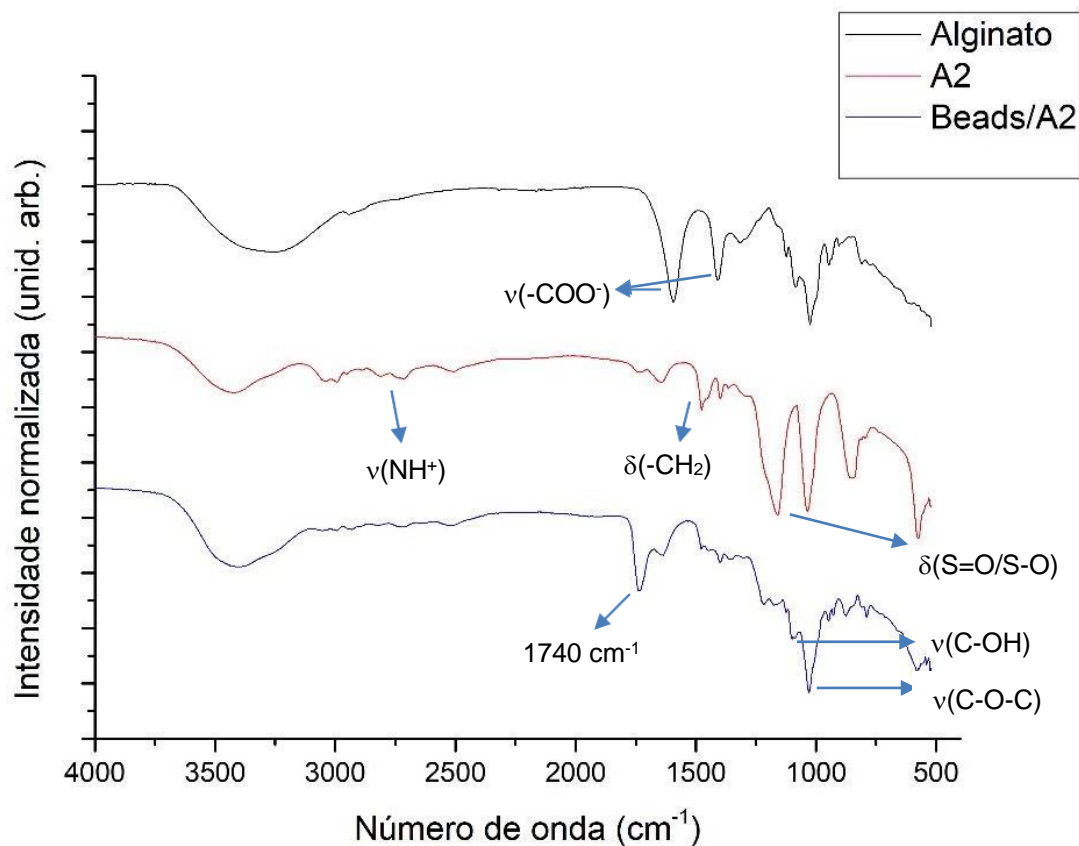


Fonte: A autora (2020).

Na configuração proposta para a reticulação iônica do LI A1 com o alginato de sódio, as cadeias do alginato estão dispostas com os blocos formados na ordem G-G, conforme a estrutura B da figura 5, a qual foi a mais adequada para simular as interações com o LI. Moléculas de água ocupam os espaços entre as ligações cruzadas, formando a rede tridimensional hidratada característica de um hidrogel. Além disso, a figura 38 mostra que sem a presença dos grupos alquil-éter na estrutura do LI, menos pontes de hidrogênio ocorrem para que haja a reticulação, o que pode justificar o fato de os LIs A3 e A4 não reticularem com o alginato, como mencionado anteriormente. As cargas negativas dos grupos S-O^- e carboxilato são estabilizadas pela presença de cátions Na^+ provenientes do alginato e de cátions H^+ presentes na água.

Em relação ao sistema beads/A2, o espectro de infravermelho obtido foi comparado com os espectros do LI A2 utilizado e do alginato, conforme demonstrado na figura 39. O LI A2 apresenta bandas características referentes aos grupos de sal de amônio e do hidrogenossulfato, os quais compõem o cátion e o ânion no LI, como já visto através da sua estrutura (figura 18). As duas bandas que aparecem na região entre $2780\text{-}2670\text{ cm}^{-1}$ representam os estiramentos da ligação NH^+ em cadeias alifáticas, característicos de sais de amônio quaternário (SHMUKLER, L.E. et al., 2018; PAVIA et al., 2010). As bandas referentes aos grupos S=O e S-O aparecem em 1165 e 1035 cm^{-1} , respectivamente, assim como LI A1 (com a banda do S-O um pouco mais forte). Em 1470 cm^{-1} , é possível perceber bandas referentes à deformação angular simétrica dos grupos -CH_2 presentes no LI A2.

Figura 39 - Espectro de infravermelho do sistema beads/A2, juntamente com o alginato e o líquido iônico A2.



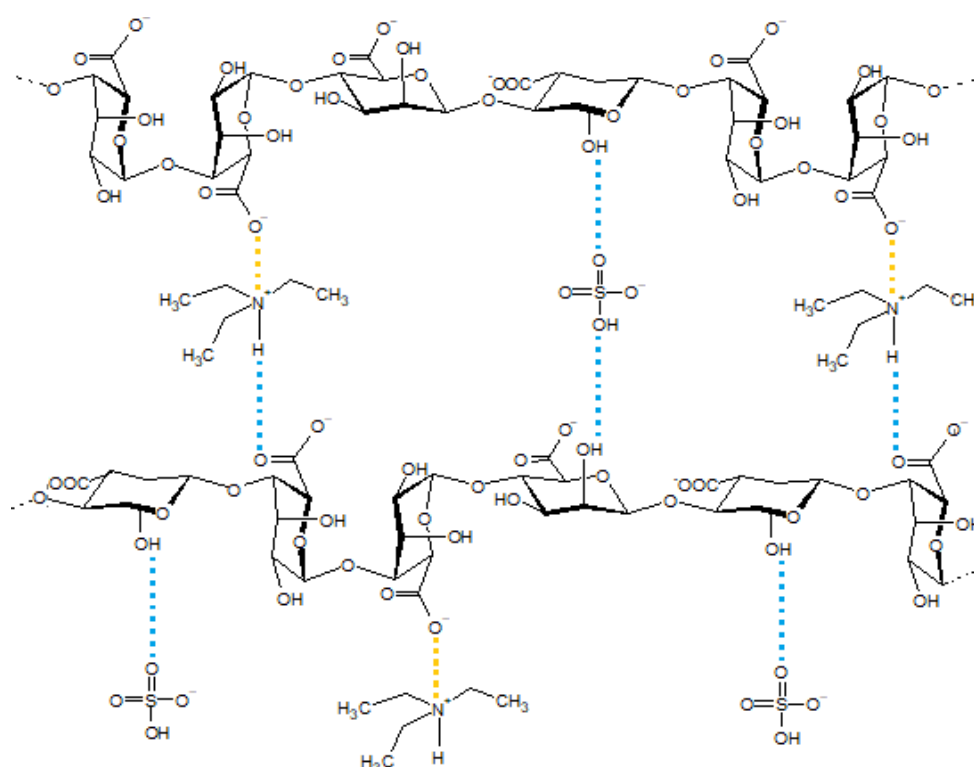
Fonte: A autora (2020).

No espectro do sistema beads/A2, nota-se a presença da banda dos grupos alquil-éter C-O-C em 1030 cm^{-1} , proveniente do alginato, além da banda referente aos grupos C-OH presentes na cadeia do alginato, que foi deslocada de 1085 cm^{-1} para 1090 cm^{-1} . Apesar deste deslocamento ser baixo, o mesmo pode ser atribuído a possíveis interações das hidroxilas do alginato com as cadeias do LI A2, assim como no LI A1. As bandas referentes à deformação dos grupos $-\text{CH}_2$ presentes no sal de amônio aparecem fracas na formação da rede polimérica em 1480 cm^{-1} , enquanto a banda referente à deformação de grupos N-H no plano aparece mais forte devido à sobreposição das bandas do carboxilato que absorvem na mesma região.

Em 1740 cm^{-1} , houve a formação de uma banda evidente no espectro do sistema beads/A2 que pode ser atribuída à protonação dos grupos carboxilato ou a algum tipo de interação que estabiliza o carboxilato, assim como na estrutura do sistema beads/A1 analisada no espectro da figura 36. Isto pode indicar que os grupos carboxilato interagiram ionicamente com o cátion de sal de amônio da

estrutura do LI A2. A banda larga em 3320 cm^{-1} pode ser referente à sobreposição das bandas dos grupos -OH do alginato com o estiramento N-H do LI A2, podendo indicar também interações com as cadeias do LI, como pontes de hidrogênio, devido ao aumento da intensidade. Considerando estas atribuições, a configuração da reticulação iônica entre o LI A2 e o alginato também foi proposta, conforme a figura 40.

Figura 40 - Configuração proposta para a reticulação iônica do LI A2 com o alginato de sódio. As interações iônicas são dadas em laranja e as pontes de hidrogênio em azul.



Fonte: A autora (2020).

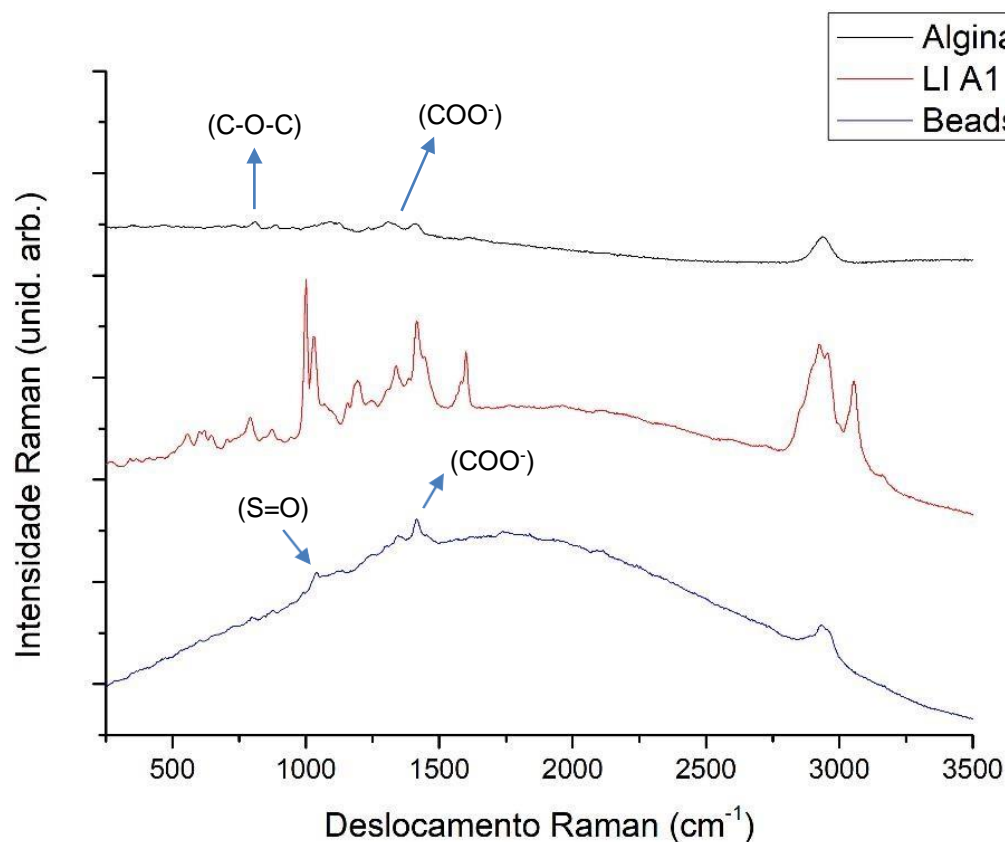
Na configuração proposta para a reticulação iônica do LI A2 com o alginato de sódio, as cadeias do alginato estão dispostas com os blocos do alginato formados na ordem G-G-M-M-G-G, mostrada na figura 40, conforme as simulações vistas pela figura 5. Outras ordens de formação dos blocos M ou G do alginato não pareciam adequadas por conta de possíveis repulsões eletrostáticas que poderiam existir com a proximidade de grupos negativos. Nesta disposição das cadeias, os espaços entre as ligações cruzadas acomodam as moléculas de água, formando uma rede tridimensional hidratada com cavidades. Assim como no sistema beads/A1, a presença de cátions Na^+ provenientes do alginato e de cátions H^+ presentes na água

estabilizam as cargas negativas provenientes de grupos hidrogenossulfato e carboxilatos.

6.4.2 Espectroscopia Raman

Analizando o espectro Raman obtido para o sistema beads/A1 (figura 41) em comparação com o alginato e o LI A1 sintetizado, é possível perceber mudanças nas intensidades de bandas específicas após a reticulação da rede polimérica. No espectro do alginato, bandas que aparecem em 1300 e 1409 cm^{-1} são associadas aos estiramentos simétrico e assimétrico dos grupos carboxilato, respectivamente, enquanto as bandas em 812 e 2939 cm^{-1} se referem aos estiramentos dos grupos C-O-C e -OH presentes em sua estrutura glicosídica (SMITH; DENT, 2005). Conforme o espectro do sistema beads/A1, a banda referente ao estiramento dos grupos carboxilato aparece em 1409 cm^{-1} , proveniente da estrutura do alginato, só que com maior intensidade. Isto demonstra que pode ter havido interações iônicas que estabilizaram a carga dos grupos carboxilato diante da reticulação com o LI A1, conforme já visto através dos espectros de infravermelho. A banda em 1033 cm^{-1} confirma a presença dos grupos S=O provenientes do LI A1 na rede tridimensional.

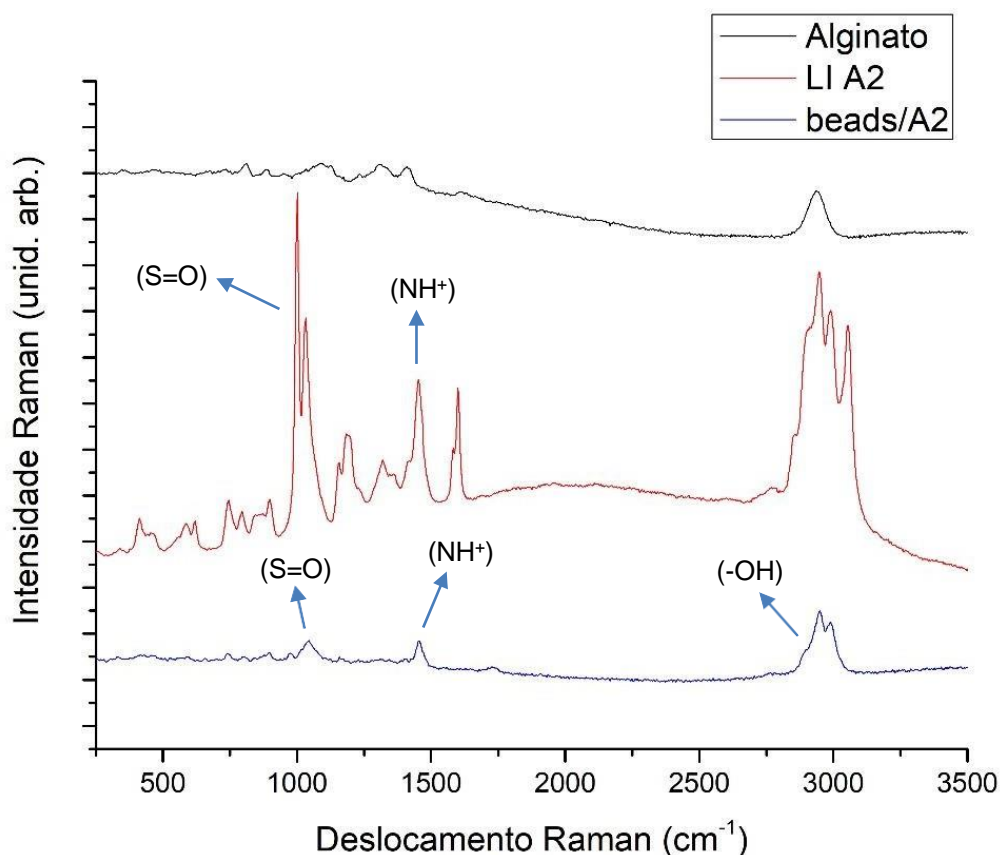
Figura 41 - Espectro Raman obtido para o sistema beads/A1, em comparação com o LI A1 e o alginato.



Fonte: A autora (2020).

Através do espectro obtido para o sistema beads/A2, mostrado na figura 42, foi possível comparar as bandas do alginato e do LI A2 formadas com as bandas da rede polimérica do material. O LI A2 apresenta bandas características em 1457 cm^{-1} referente à deformação de grupos NH^+ e em 1033 cm^{-1} referente ao estiramento dos grupos $\text{S}=\text{O}$, presentes na estrutura do LI (PAWLUKOWICZ et al., 2005). Em 1158 cm^{-1} também é possível encontrar as bandas associadas ao estiramento das ligações $\text{C}-\text{N}$ presentes no cátion de sal de amônio do LI A2. No sistema beads/A2, as bandas formadas em 1457 cm^{-1} e 1043 cm^{-1} confirmam a presença dos grupos NH^+ e $\text{S}=\text{O}$ provenientes do LI. Em 812 cm^{-1} e 2949 cm^{-1} nota-se a presença de duas bandas que podem ser atribuídas ao estiramento dos grupos $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ e às interações com os grupos hidroxila provenientes do alginato, respectivamente.

Figura 42 - Espectro Raman obtido para o sistema beads/A2, em comparação com o LI A1 e o alginato.



Fonte: A autora (2020).

6.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

Através da análise termogravimétrica obtida a partir das curvas de TGA feitas para os sistemas beads/A1 e beads/A2 nas concentrações de LI a 25%, 50% e 75%, foi possível conferir a degradação da estrutura da rede polimérica com o aquecimento do material e comparar as estabilidades dos sistemas. Conforme a figura 43, onde foi analisado o sistema beads/A1 nas três concentrações, é possível perceber entre 45° C e 110° C uma perda de massa de aproximadamente 15%, a qual pode ser atribuída à perda de água da rede. A partir de 170° C, nota-se perda de massa em dois eventos: um entre 180° C e 250° C e outro bem evidente entre 250° C e 340° C.

A degradação referente ao evento entre 250° C e 340° C pode ser atribuída à quebra das cadeias carbônicas alquílicas presentes no material e à quebra das ligações O-H provenientes do alginato. Renan da Silva Fernandes et al., por exemplo, obtiveram uma curva similar na análise termogravimétrica para beads de alginato

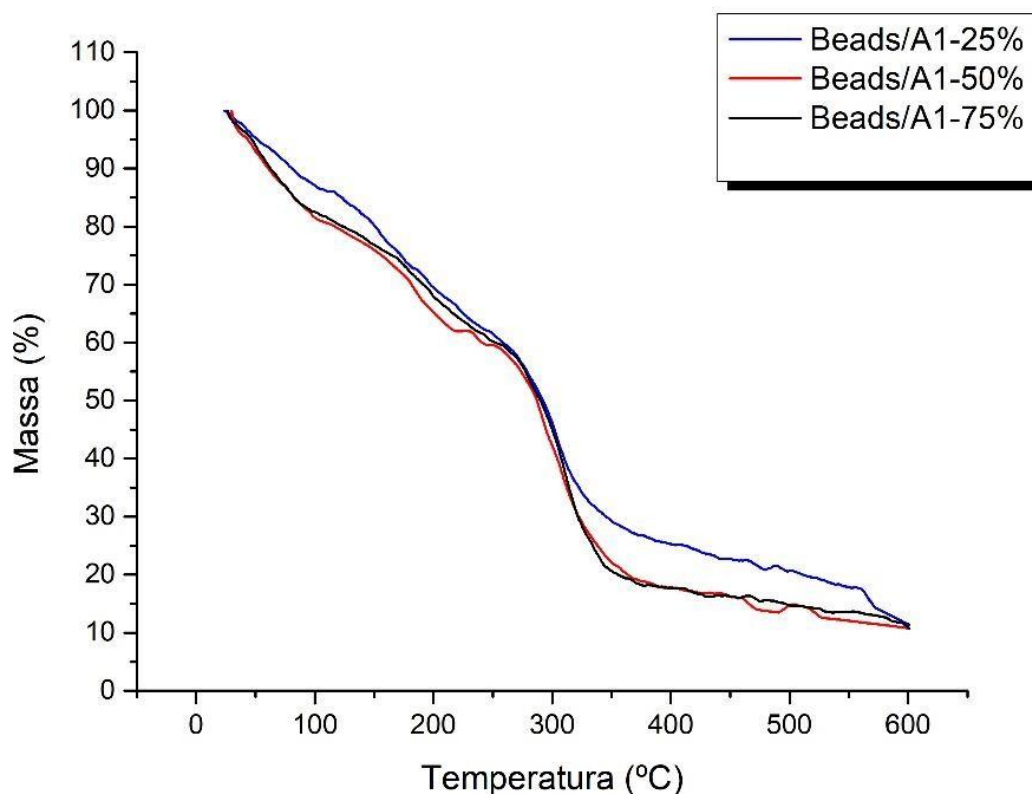
reticulados com CaCl_2 , sob atmosfera inerte. Eles observaram um evento entre 30° e 150° C, o foi atribuído à perda de água do sistema, e um outro evento entre 200° e 320° C atribuído à decomposição das cadeias carbônicas provenientes do alginato (FERNANDES, R. S. et al., 2017). Claudio Larosa et al. também obtiveram resultados similares na análise termogravimétrica de beads de alginato reticulados com CaCl_2 , sob atmosfera inerte. Foram observados eventos entre 175° e 300° C referentes à decomposição da cadeia polimérica do alginato (FERNANDES, R. S. et al., 2017; LAROSA, C. et al., 2018).

Já a perda de massa presente entre 180° C e 250° C pode ser atribuída à decomposição das cadeias na estrutura do LI A1, já que é um evento não presente nas curvas obtidas para os beads de alginato reticulados com CaCl_2 produzidos por Renan da Silva Fernandes et al. e Claudio Larosa et al. Porém, é necessária a análise termogravimétrica do LI A1 separadamente para efeito de comparação.

A degradação do enxofre nas ligações com o carbono e com o oxigênio presentes no LI A1 geralmente ocorrem entre 600-700° C, conforme Sandineni, P., Yaghoobnejad Asl, H. e Choudhury, A. Como a faixa de temperatura na análise de até 600° C, não foi possível obter o evento referente a esta degradação (SANDINENI; YAGHOOBNEJAD-ASL; CHOUDHURY, 2016).

Comparando as curvas obtidas para o sistema nas diferentes concentrações, é demonstrado que não houve diferenças significativas de estabilidade térmica. O perfil de degradação nas curvas foi similar, tendo uma pequena diferença na composição térmica da cadeia polimérica para o sistema com concentração de LI a 25%, com o aparecimento de mais um evento entre 500 e 600° C. Contudo, para os demais intervalos de temperatura dos eventos citados, as perdas de massa ocorreram de forma semelhante para as três concentrações estudadas. No trabalho de Renan da Silva Fernandes et al. também foram realizadas análises termogravimétricas dos beads em diferentes concentrações de CaCl_2 , e foi demonstrado que não houve diferença de estabilidade entre os sistemas, com obtenção de curvas semelhantes para todos os casos (FERNANDES, R. S. et al., 2017).

Figura 43 - Curvas de TGA do sistema beads/A1 nas concentrações de líquido iônico a 25%, 50% e 75%.



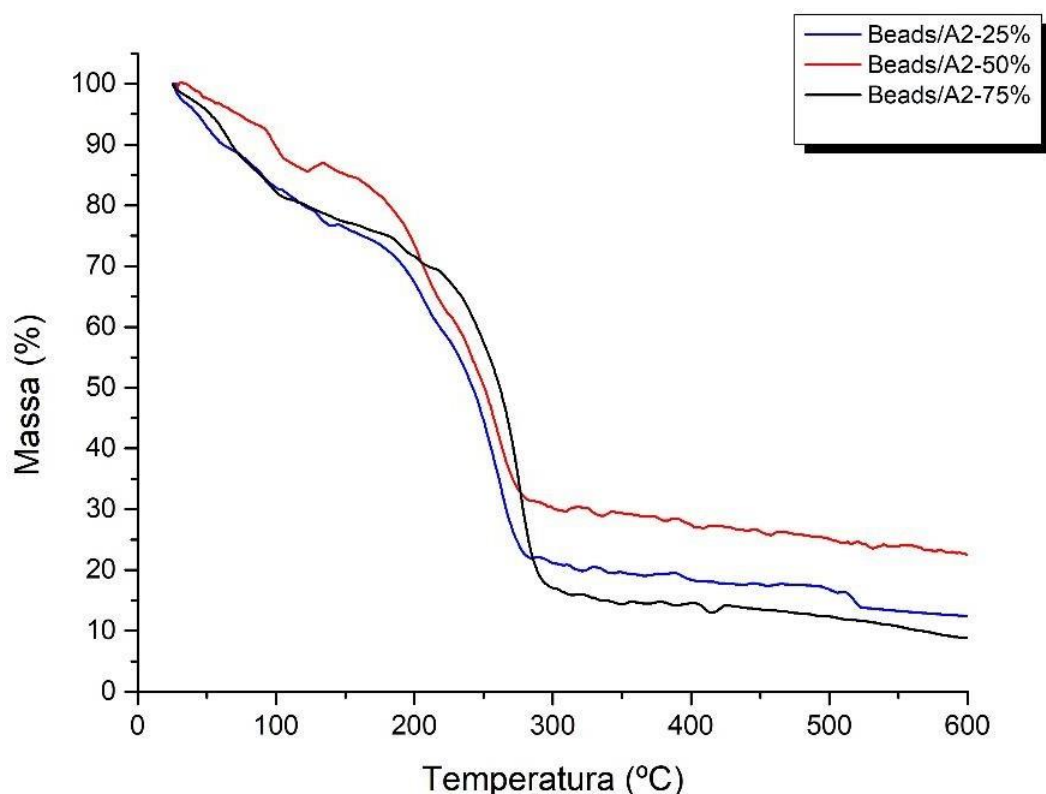
Fonte: A autora (2020).

Na análise termogravimétrica do sistema beads/A2 nas três concentrações, conforme a figura 44, é possível notar um evento entre 35° e 200° C e outro entre 200° e 300° C que, assim como nas curvas obtidas para o sistema beads/A1, podem ser atribuídas à perda de água e à quebra das cadeias carbônicas provenientes do alginato, respectivamente. Provavelmente, o intervalo de temperatura em que há decomposição das cadeias provenientes do LI A2 está incluído nos dois eventos sobrepostos nas curvas, o que pode ser investigado com a realização de análise termogravimétrica para o LI A2 separadamente. Da mesma forma que no sistema beads/A1, o sistema beads/A2 apresenta ligações S-O, as quais degradam entre 600° C e 700° C, que também não puderam ser notadas pelo limite de temperatura da análise que foi de 600° C (SANDINENI; YAGHOOBNEJAD-ASL; CHOUDHURY, 2016).

Ao comparar-se o sistema beads/A2 nas diferentes concentrações, percebe-se também que não houve uma diferença acentuada de estabilidade. Neste caso, a curva da concentração de LI A2 a 75% apresentou um leve aumento de estabilidade

no evento entre 200° e 300° C, demonstrando uma sutil resistência térmica maior das ligações nesta região. A curva referente à concentração de LI A2 a 50% apresentou uma perda de massa relativamente menor em relação às outras curvas, que pode ser proveniente do fato de o sistema estar um pouco menos hidratado.

Figura 44 - Curvas de TGA do sistema beads/A2 nas concentrações de líquido iônico a 25%, 50% e 75%.



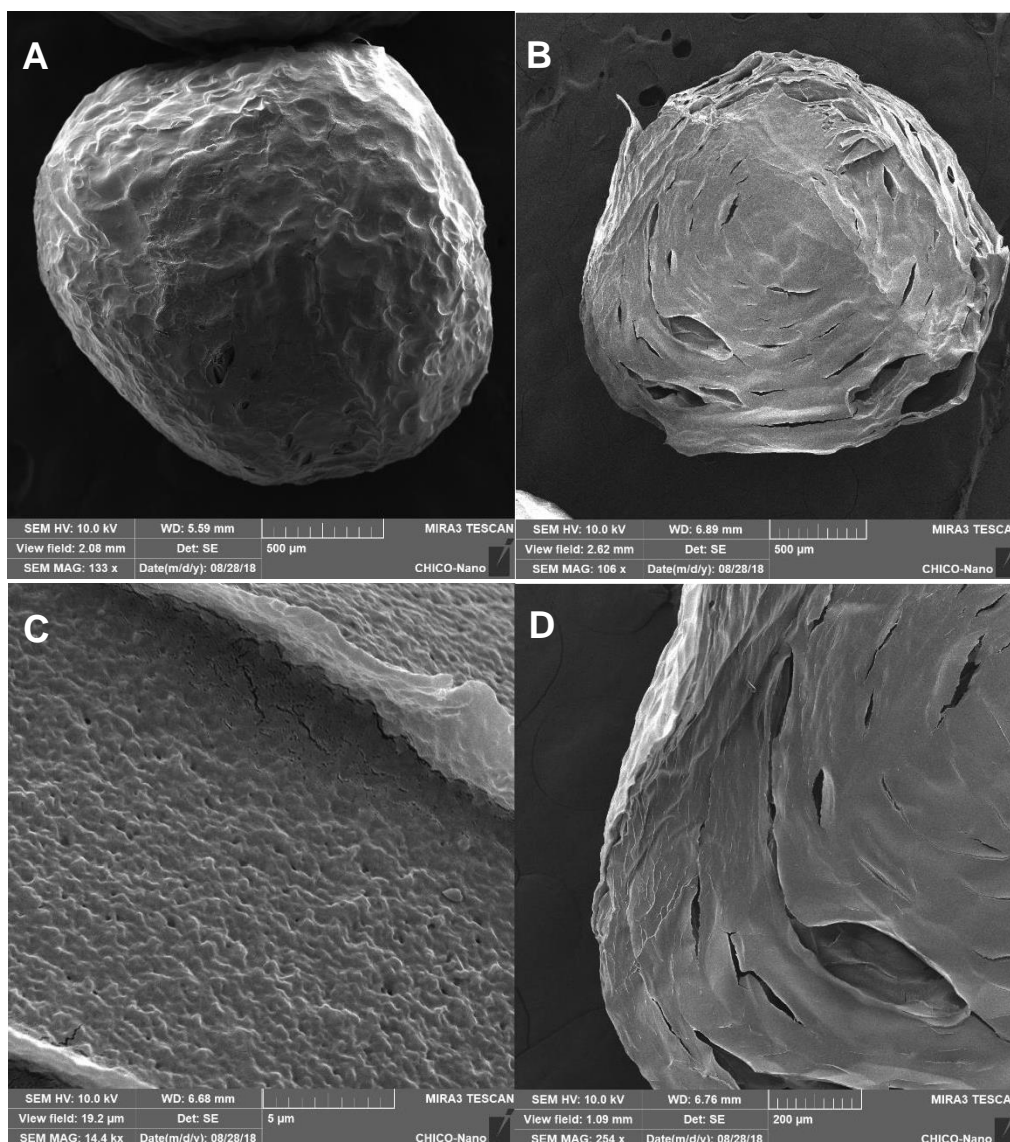
Fonte: A autora (2020).

Com os resultados obtidos, foi observado que o aumento da concentração de LI na reticulação das cadeias com o alginato para a formação dos beads não interfere na estabilidade térmica dos mesmos de forma significativa. Testes com diferentes concentrações de alginato nos sistemas também podem ser feitos para identificar se a variação da concentração de alginato interfere na sua estabilidade térmica, uma vez que a variação na concentração do agente reticulante não interfere neste caso.

6.4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos beads obtidos a partir dos LIs A1 e A2 a 50% foi observada por MEV, conforme as figuras 45 e 46, respectivamente. A partir das imagens obtidas para o sistema beads/A1, é possível perceber uma superfície externa densa e rugosa, conforme a figura 45A. O corte transversal feito no centro do bead visto nas figuras 45B e 45D demonstra a presença de ranhuras e camadas que podem ter sido formadas devido à secagem dos beads na preparação e devido à liofilização, que causou desidratação no material.

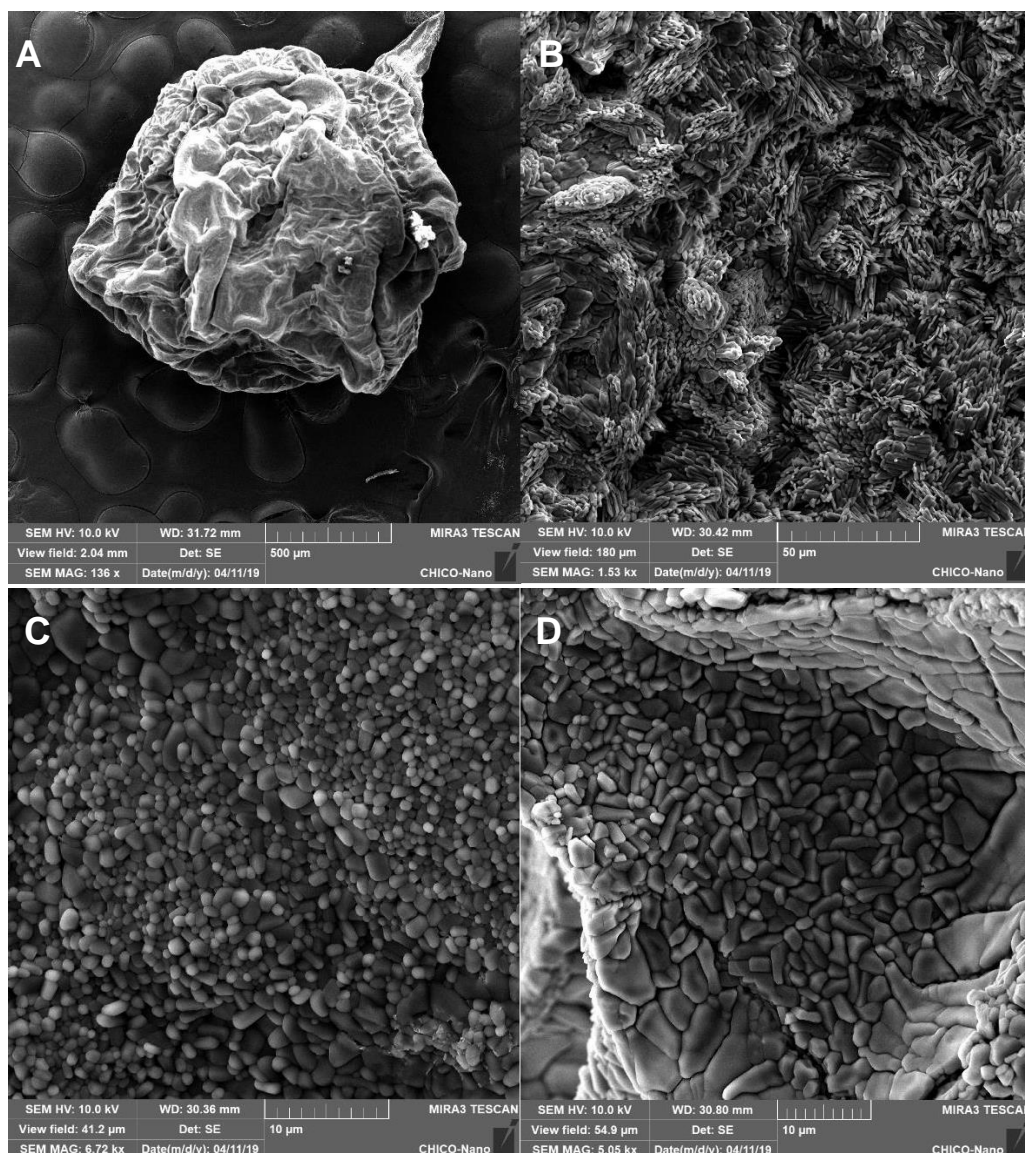
Figura 45 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) obtidas para o sistema beads/A1: bead (A), aumento na superfície do bead (C) e corte transversal no centro do bead (B) e (D).



A magnificação de 14,4 kx feita na imagem vista através da figura 45C, demonstra uma superfície áspera com muitas rugas, apresentando pequenas pontas visíveis, separadas por poros. Jagadeesen Supramaniam et al., em 2018, obteve resultados semelhantes para as imagens de MEV obtidas de beads de alginato reticulados com CaCl_2 e carregados com nanopartículas de celulose funcionalizada com ferro (SUPRAMANIAM et al., 2017). Estes poros podem acomodar moléculas e partículas de solutos em seu interior, permitindo o encapsulamento das mesmas para diversas aplicações.

Para o sistema beads/A2, é possível perceber através da figura 46A um encolhimento irregular causado pelo colapso parcial da rede tridimensional do bead durante a desidratação na liofilização. Na superfície do material nota-se a presença de pequenas depressões que geram cavidades, conforme a figura 46B, as quais permitem acomodar partículas em seu interior. Com um aumento na superfície do bead visto através das figuras 46C e 46D, com magnificações acima de 5 kx, percebe-se pequenos aglomerados com tamanho aproximado de 2 μm , semelhantes a redes tridimensionais agregadas. Isto pode ser resultado do processo de reticulação entre o alginato e o líquido iônico A2 na formação da rede polimérica. Observações análogas foram relatadas por Mingyong Zhou et al. também em 2018, o qual realizou imagens de MEV para beads de alginato reticulados com CaCl_2 e carregados com pectina e lipoproteína de baixa densidade obtida da gema do ovo, obtendo aglomerados na superfície dos beads com aproximadamente o mesmo tamanho dos obtidos pela figura 46C (ZHOU et al., 2018).

Figura 46 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) obtidas para o sistema beads/A2: bead (A) e aumento na superfície do bead (C), (D) e (E).

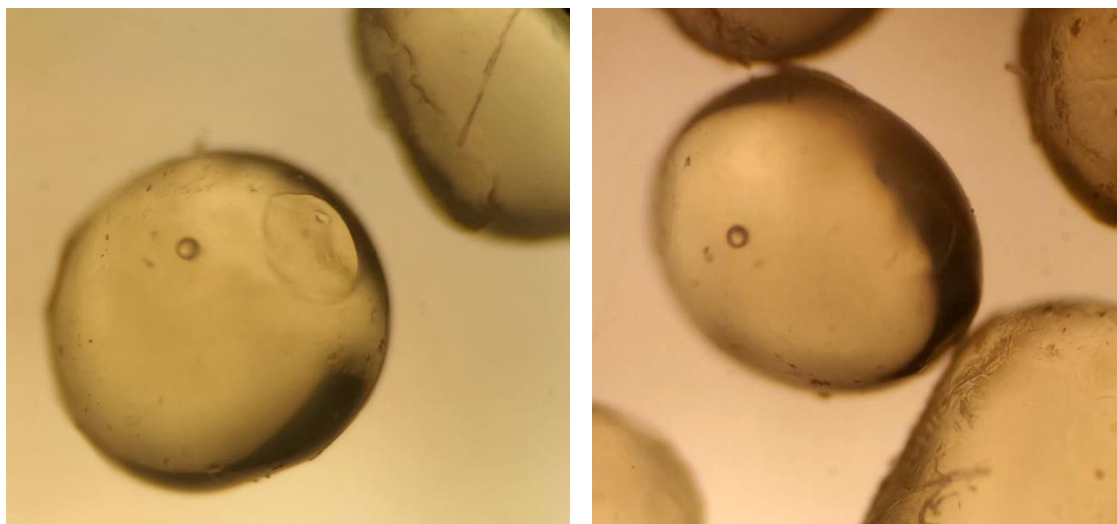


Fonte: A autora (2020).

Imagens de microscopia óptica também foram obtidas (figuras 47 e 48) para comparação com as imagens de MEV, onde se percebe que a superfície dos beads de hidrogel é translúcida, apresentando pequenos defeitos como bolhas e áreas achatadas. A formação de bolhas pode ser explicada pela presença de ar na agulha e na solução de alginato gotejada, a qual apresenta uma alta viscosidade. As imagens de MEV confirmam as deformações presentes na superfície através das pequenas cavidades mostradas. Na figura 47, são mostradas as imagens dos beads obtidos a partir dos LIs A1 e A2 após a secagem a vácuo (sem passar pelo processo de liofilização), os quais demonstram externamente mesma forma e aparência. Já na

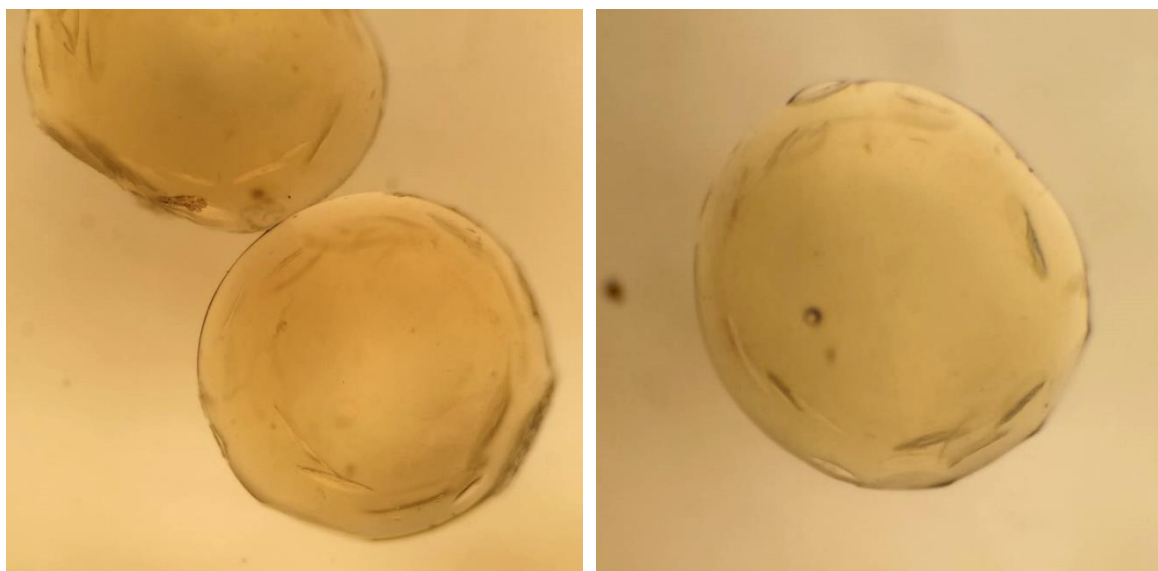
figura 48, mostra-se as imagens dos beads intumescidos após 2 minutos em água. Nota-se uma camada de hidratação formada ao redor da rede polimérica esférica que demonstra a absorção de água pelo material.

Figura 47 - Imagens de microscopia óptica obtidas para os sistemas beads/A1 (à esquerda) e beads/A2 (à direita) após a secagem a vácuo.



Fonte: A autora (2020).

Figura 48 - Imagens de microscopia óptica obtidas para os sistemas beads/A1 (à esquerda) e beads/A2 (à direita) intumescidos com água após 2 minutos.



Fonte: A autora (2020).

6.5 GRAU DE INTUMESCIMENTO E SENSIBILIDADE AO PH

O perfil de intumescimento e a análise da sensibilidade ao pH dos sistemas beads/A1 e beads/A2 obtidos é estudado neste item, através do estudo do seu comportamento em soluções com diferentes valores de pH e da variação do seu grau de intumescimento com o tempo.

6.5.1 Método experimental: perfil de intumescimento

Para a avaliação do perfil de intumescimento, os beads foram mantidos em sistemas com pHs que simulam diferentes regiões do sistema gastro-intestinal (FENG et al., 2014). Os sistemas foram preparados da seguinte forma:

- Sistema pH 1,2: Simula o pH do fluido gástrico. Solução contendo 7 mL de HCl concentrado e 2 g de NaCl em 1 L de água ultrapura;
- Sistema pH 6,0: Simula o pH do fluido do duodeno. Solução tampão-fosfato (PBS) a pH 6,0, feita a partir da mistura de 87,7 mL de uma solução de NaH_2PO_4 a 0,2 M (solução A) com 12,3 mL de uma solução de Na_2HPO_4 a 0,2 M (solução B), diluídos para 200 mL.
- Sistema pH 7,4: Simula o pH do fluido intestinal. Solução tampão-fosfato (PBS) a pH 7,4, feita a partir da mistura de 19 mL da solução A com 81 mL da solução B, diluídos para 200 mL.

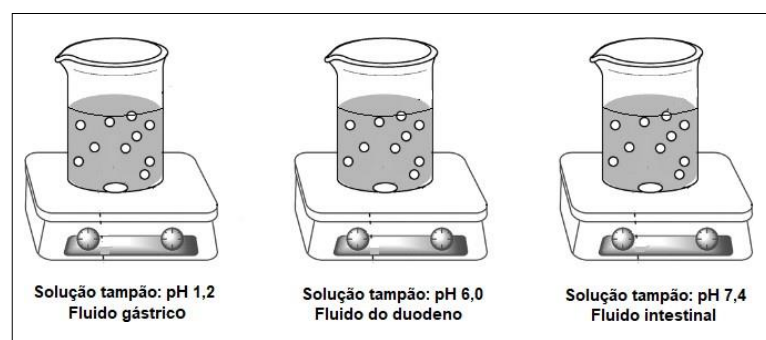
O método gravimétrico convencional foi usado para medir o grau de intumescimento (S_w) dos beads (YIN; WANG; WANG, 2018). Inicialmente, cinco beads formados dos líquidos iônicos nas concentrações de 25% e 50% foram pesados e imersos nas soluções de diferentes pHs citadas acima, a 37° C, sob agitação, durante 6 horas, conforme a ilustração na figura 49. Em intervalos de 5 minutos até 30 minutos e de 1 h até completar 6 h, os beads foram retirados dos sistemas, secos num papel de filtro para retirar o excesso de água e, em seguida, foram pesados para

análise do ganho de água e inchaço na rede polimérica em função do pH. Os valores de S_w foram calculados através da seguinte equação:

$$S_w = \frac{w_t - w_0}{w_0} \times 100 \quad (4)$$

onde w_t e w_0 são a massa (mg) dos beads inchados retirados dos sistemas no tempo t e a massa inicial dos beads secos antes de serem adicionados nos sistemas, respectivamente. Cada experimento foi repetido 3 vezes e a média dos valores foi utilizada. Foi traçada uma curva do grau de intumescimento *versus* tempo e um gráfico do grau de intumescimento de acordo com o pH.

Figura 49 - Ilustração dos beads submersos em soluções com diferentes valores de pH para análise do grau de intumescimento.



Fonte: A autora (2020).

6.5.2 Avaliação do perfil de intumescimento e sensibilidade ao pH

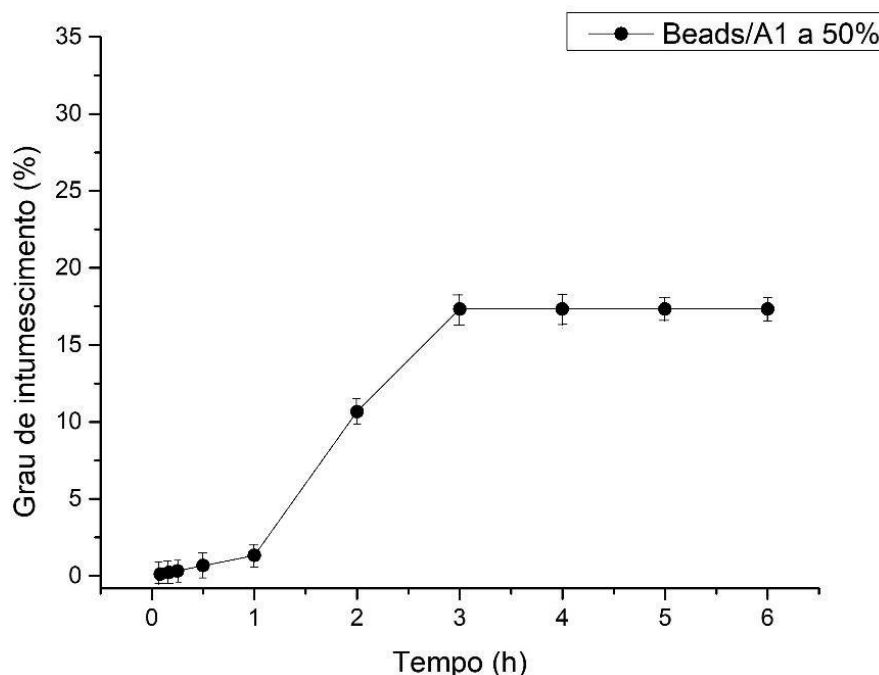
Os sistemas beads/A1 e beads/A2 com concentrações de LIs a 25% e 50% foram submetidos às soluções de pH 1,2, 6,0 e 7,4 afim de permitir o estudo do grau de intumescimento e a sensibilidade dos materiais em meios com pHs que simulam regiões do sistema gastro-intestinal. Os beads com concentração de LIs a 75% não foram estudados nestes testes pelo fato de não apresentarem forma esférica regular, ou uma forma estrutural não otimizada. O objetivo foi estudar o quanto os beads incham em diferentes concentrações de LI, variando o pH.

Os beads/A1 e A2 apresentaram estabilidades diferentes nas soluções com diferentes pHs. Sob pH 1,2, os beads dos dois sistemas demonstraram ser estáveis, mantendo sua estrutura e forma durante o experimento. Já nas soluções de pH 6,0 e

7,4, os beads foram dissolvidos completamente antes dos 10 primeiros minutos. Isto pode ser explicado pelo fato de que no meio ácido, a presença dos grupos H^+ estabiliza a estrutura do bead porque permite a formação de pontes de hidrogênio com os grupos carboxilato ($-COO^-$) provenientes do alginato na estrutura, protonando-os e formando ácidos carboxílicos em meio à reticulação. Já em pHs mais altos, como 6,0 e 7,4, vai haver a desprotonação destes grupos, causando uma repulsão eletrostática entre os mesmos ($-COO^- \leftrightarrow ^-OOC-$). Isto leva à quebra das interações entre as cadeias poliméricas dos beads, desestruturando-os. Desta forma, não foi possível analisar o grau do intumescimento dos materiais sob pH 6,0 e 7,4 durante 7 horas. Foram obtidos os resultados apenas para os primeiros minutos. Os testes do grau de intumescimento durante 7 horas foram realizados apenas sob pH 1,2.

Para o sistema beads/A1, é visto que na concentração de 25% de LI, os beads sofreram degradação mecânica quando a solução foi submetida à agitação, apesar de terem sido estáveis sob pH 1,2. O contato da barra magnética com os beads fez com que eles se partissem em pedaços em questão de 5 minutos, impedindo de ser realizada a análise do seu grau de intumescimento. Isto demonstra que neste sistema a esta concentração, os beads não apresentam resistência suficiente para absorver água sob agitação. Já na concentração de LI a 50%, os beads apresentaram resistência, no que foi possível estudar o seu comportamento. Os valores médios das massas dos beads pesados em triplicata para cada tempo t (m_t) até completar as 6 horas de experimento, juntamente com o valor da massa inicial dos beads secos antes de serem inseridos nas soluções (m_o), foram usados para calcular o grau de intumescimento S_w em porcentagem, a partir da equação 4 na página 73. Desta forma, foi possível obter a curva do grau de intumescimento pelo tempo para o sistema beads/A1 com LI a 50%, demonstrada na figura 50.

Figura 50 - Grau de intumescimento para o sistema beads/A1 com líquido iônico a 50%, sob pH 1,2.



Fonte: A autora (2020).

Como visto pela curva obtida, o sistema beads/A1 intumescceu apenas 1,33% até atingir 1 hora na solução. Depois, o grau de intumescimento aumentou até a terceira hora do experimento e permaneceu constante até completar as 6 horas, o que significa que são necessárias apenas 3 horas para que o sistema entre em equilíbrio. Neste momento, a rede polimérica não intumescce mais, ou seja, a entrada de água na rede é cessada demonstrando até qual nível de inchaço o material pode atingir sem alterar a sua estrutura.

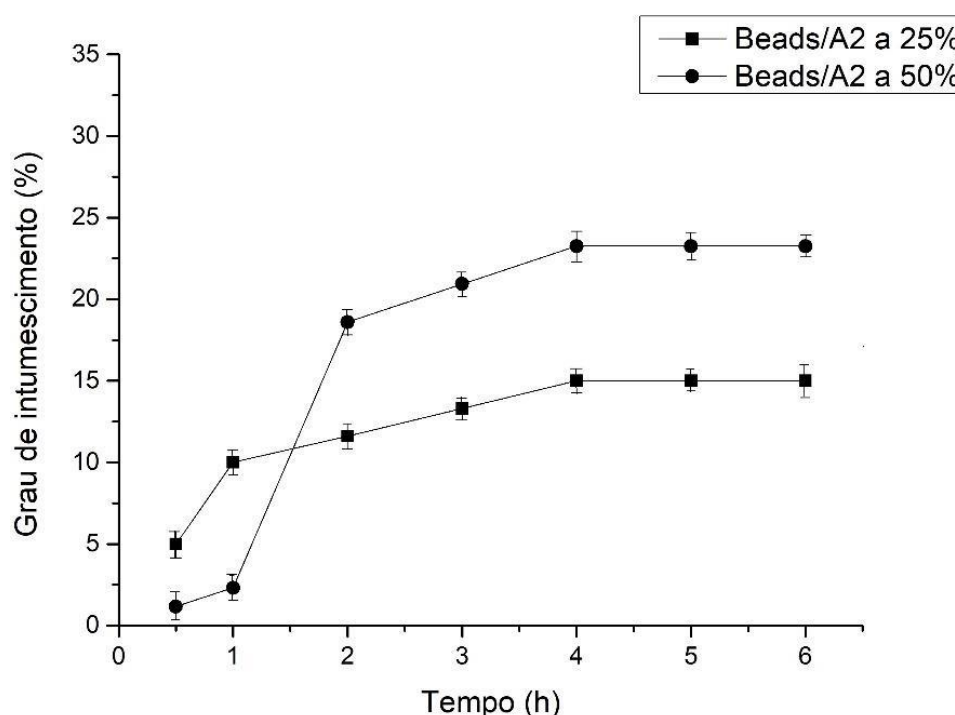
Pode-se notar pela curva que no final do experimento, o sistema não intumescceu mais do que 17,33%, apresentando um grau de intumescimento relativamente baixo. Materiais com baixo grau de intumescimento tendem a liberar substâncias encapsuladas em seu interior mais lentamente, tendo em vista que a entrada de água na rede é baixa e ocorre num período de tempo razoável.

Os beads de alginato com ágar reticulados com CaCl_2 produzidos por Zi-Chen Yin et al. em 2017 também atingiram o equilíbrio de intumescimento em poucas horas, quando analisada a variação do seu grau de intumescimento com o tempo. Na razão de 15:10 de alginato e ágar, por exemplo, os beads atingiram o equilíbrio de

intumescimento em aproximadamente 4 h, intumescendo até 36% até o equilíbrio (YIN et al., 2017).

Para o sistema beads/A2 nas concentrações de líquidos iônicos a 25% e 50%, as massas médias m_t e m_o também foram usadas para calcular o grau de intumescimento S_w em porcentagem, o que permitiu a construção da curva do grau de intumescimento pelo tempo, conforme a figura 51:

Figura 51 - Grau de intumescimento para o sistema beads/A2 com líquido iônico a 25% e 50%, sob pH 1,2.



Fonte: A autora (2020).

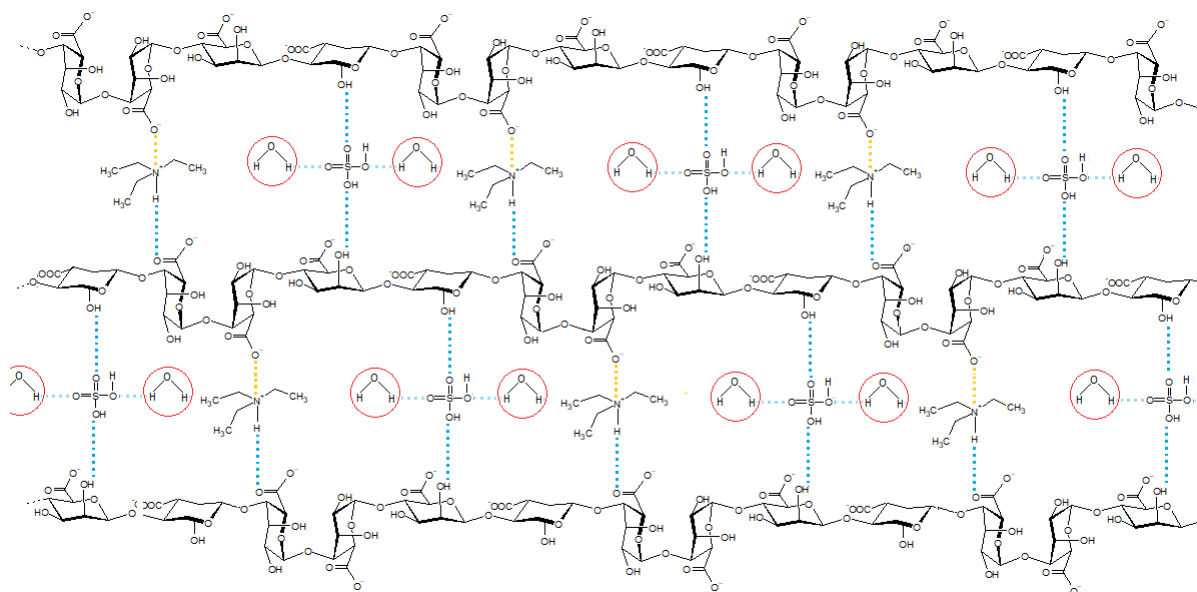
Os sistemas beads/A2 a 25% e a 50% atingiram o equilíbrio de intumescimento em 4 horas de experimento sob pH 1,2, onde o grau de intumescimento permaneceu constante até completar 6 horas. Isto significa que foram necessárias 4 horas para que o sistema atingisse o equilíbrio, demonstrando que o sistema beads/A2 intumesce mais que o sistema beads/A1 em pH ácido. Também é possível notar que o sistema beads/A2 a 25% intumescceu até 15,00% enquanto que o sistema beads/A2 a 50% intumescceu até 23,25%, resultando num comportamento contrário ao esperado.

Com o aumento da concentração de LI como agente reticulante da rede, era esperado que o grau de reticulação aumentasse, fazendo com que o material

intumescesse menos ou que entrasse menos água pela rede. Sangamesh G. Kumbar e Tejrav M. Aminabhavi, por exemplo, prepararam beads de Poly(vinyl alcohol)-grafted-Poly(acrylamide) com alginato de sódio utilizando glutaraldeído como agente reticulante nas concentrações de 5%, 10% e 15% (v/v), e realizou experimentos para medir o grau de intumescimento dos beads. Eles perceberam que na concentração de 5% de glutaraldeído, os beads apresentavam um intumescimento de 42,72%, na de 10%, um intumescimento de 38,61%, enquanto que na concentração de 15% de glutaraldeído, o intumescimento foi de 35,14%, demonstrando que o aumento da concentração do agente reticulante diminui o grau de intumescimento, ocasionando uma menor absorção de água na rede polimérica dos beads (KUMBAR S. G.; AMINABHAVI T. M., 2001).

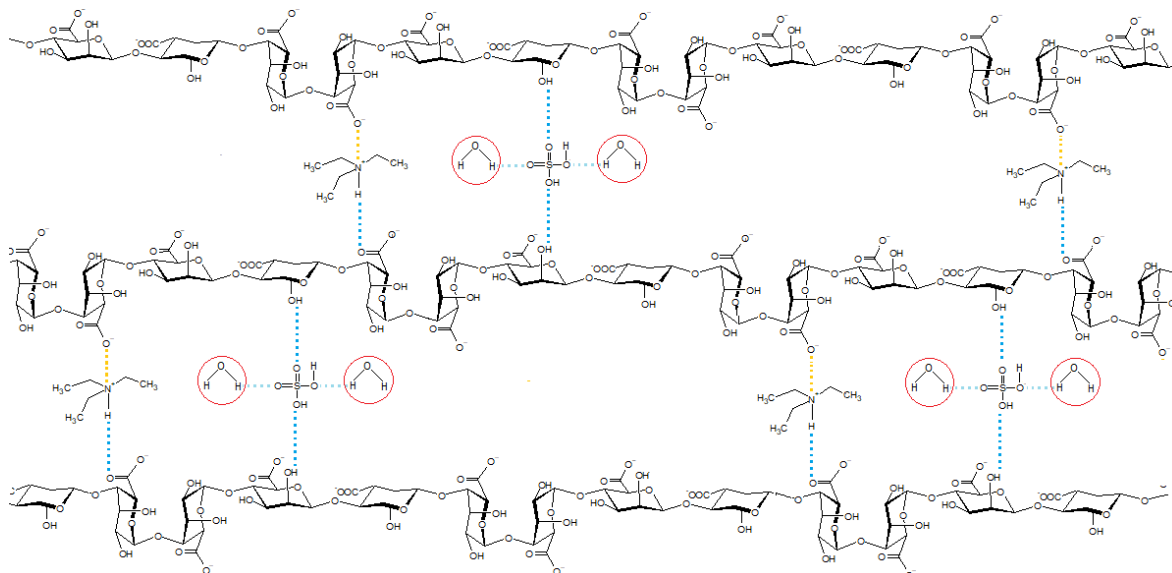
Contudo, os resultados obtidos na figura 51 mostram que o sistema com concentração maior de LI intumesciu mais, o que abre portas para a hipótese de que o LI A2 no sistema beads/A2 esteja realizando interações com as moléculas de água presentes. Como a concentração de 50% de LI é maior, a possibilidade de interações entre os grupos hidrogenossulfato e as moléculas de água também é maior, fazendo com que o material absorva mais água a concentrações mais altas de LI. Nas figuras 52 e 53, estas interações com a água são demonstradas na configuração proposta para a reticulação iônica do LI A2 com o alginato, para uma concentração maior e para uma concentração menor de LI, respectivamente. Desta forma, diante dos valores do grau de intumescimento obtidos, estima-se que o sistema beads/A2 a 25% tende a liberar moléculas encapsuladas mais lentamente que na concentração de 50%, devido ao grau de intumescimento menor.

Figura 52 - Interações entre os grupos hidrogenossulfonato protonados e as moléculas de água na configuração da reticulação do LI A2 com o alginato, a altas concentrações de LI. As interações iônicas são mostradas em laranja e as pontes de hidrogênio em azul. As moléculas de água são representadas por círculos vermelhos.



Fonte: A autora (2020).

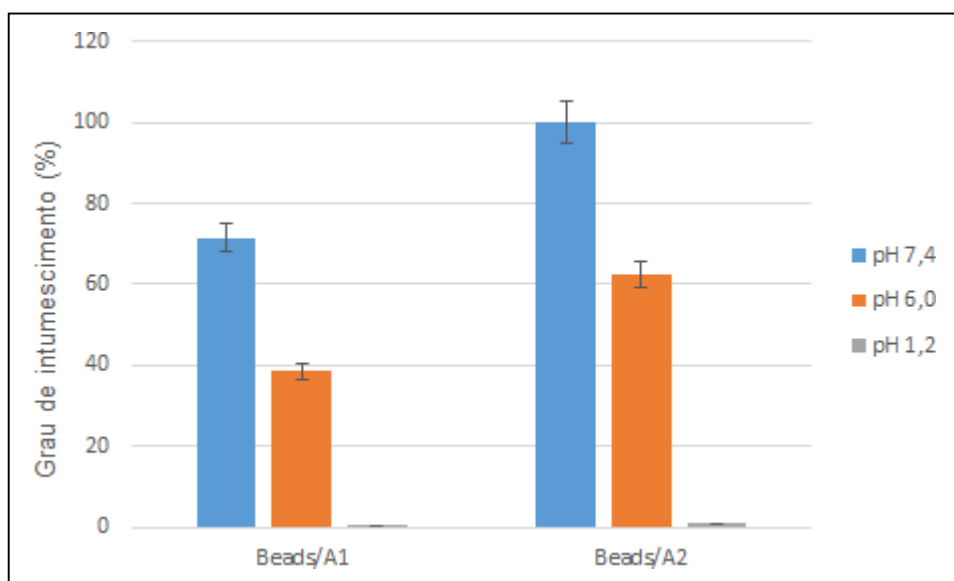
Figura 53 - Interações entre os grupos hidrogenossulfonato protonados e as moléculas de água na configuração da reticulação do LI A2 com o alginato, a baixas concentrações de LI. As interações iônicas são mostradas em laranja e as pontes de hidrogênio em azul. As moléculas de água são representadas por círculos vermelhos.



Fonte: A autora (2020).

Como os beads apresentaram dissolução total sob pH 6,0 e 7,4 após os 10 primeiros minutos, o grau de intumescimento dos sistemas beads/A1 e A2 a 50% nos 5 primeiros minutos, sob pH 1,2, 6,0 e 7,4, foi plotado num gráfico a fim de comparar o quanto os sistemas intumescem variando o pH do meio. O gráfico obtido é demonstrado na figura 54.

Figura 54 - Grau de intumescimento dos sistemas beads/A1 e A2 com líquidos iônicos a 50% depois de 5 minutos, sob pH 1,2, 6,0 e 7,4.



Fonte: A autora (2020).

A partir do gráfico obtido, nota-se que o sistema beads/A2 intumescem mais que o sistema beads/A1, nos três valores de pH testados, demonstrando que o sistema beads/A1 aparenta ser um pouco mais estável que o sistema beads/A2, tendo em vista que absorve menos água diante de um intervalo de tempo medido. Sob pH 1,2, tem-se que os beads intumescem muito pouco nos primeiros minutos, numa taxa insignificativa, enquanto que sob pH 6,0 e 7,4, os beads intumescem completamente até os 10 primeiros minutos, sendo completamente dissolvidos após o intumescimento. Merve Olukman, Oya Sanh e Ebru Kondolot Solak obtiveram resultados similares no estudo de beads de alginato reticulados com cloreto de Al^{3+} , Ca^{2+} e Zn^{2+} no que diz respeito à variação do intumescimento com o pH do meio. Sob pH 1,2, os beads apresentaram estabilidade, intumescendo gradativamente ao longo de 24 h, enquanto que sob pH 6,8 e 7,4, os beads intumesceram completamente em poucos minutos, resultando no seu rompimento e dissolução total logo no início do

experimento. A protonação e a desprotonação dos grupos carboxilato do alginato na estrutura do beads reticulados com os sais interferiu na variação de intumescimento com o pH do sistema, assim como para os beads obtidos neste trabalho (OLUKMAN, M.; SANH, O.; SOLAK, E. K., 2012).

Diante dos resultados obtidos para a sensibilidade ao pH dos sistemas beads/A1 e beads/A2, é considerável que a liberação de fármacos encapsulados nestes sistemas seria mais sustentada e lenta para meios com o pH ácido e muito rápida para pH neutro ou básico, já que a liberação depende do grau de intumescimento do sistema. Desta forma, este tipo de material poderia ser direcionado ao encapsulamento de fármacos seletivos utilizados em tratamentos que exigem especificidade de pH, resultando numa liberação controlada.

7 ENCAPSULAMENTO E LIBERAÇÃO DOS FÁRMACOS

Neste capítulo, são estudados o encapsulamento e a liberação dos fármacos indometacina e 5-fluorouracil nos sistemas beads/A1 e beads/A2 para a análise da eficiência dos mesmos diante da interação deste tipo de rede polimérica com fármacos de diferentes aplicações, como analgésicos, no caso da indometacina, e anti-neoplásicos, no caso do 5-fluorouracil.

7.1 PERFIL DE ENCAPSULAMENTO

7.1.1 Método experimental: encapsulamento dos fármacos

Preparou-se uma solução de 1 mL de alginato de sódio a 5% (m/v) em água, contendo indometacina (INDO) numa proporção de 25% (m/m) da massa de alginato utilizada (YIN; WANG; WANG, 2018). A solução foi mantida sob agitação durante 30 minutos e em seguida foi gotejada nas soluções de líquidos iônicos, conforme o procedimento descrito no item 6.1. Os beads com fármaco encapsulado foram lavados três vezes com água para remoção de vestígios de fármaco em sua superfície, e os mesmos foram secos a 40° C, a vácuo, durante 12 h. Este procedimento foi repetido para o fármaco 5-fluorouracil (5-FLU).

Para a análise do perfil de encapsulamento dos fármacos, foram preparadas soluções de indometacina em etanol e 5-fluorouracil em água em diferentes concentrações para a obtenção das curvas de calibração dos mesmos, já demonstradas na figura 19. Gráficos de absorbância *versus* concentração puderam ser construídos, o que permitiu obter uma equação da reta dessa relação. As concentrações das soluções dos fármacos utilizadas bem como o comprimento de onda de absorção máxima no UV-Vis dos mesmos estão dispostas na tabela 2 (SURYAKUSUMA; JUN, 1984; OLUKMAN; SANH; SOLAK, 2012).

Tabela 2 - Concentrações das soluções dos fármacos utilizadas para obtenção das respectivas curvas de calibração.

Concentrações estabelecidas (10 ⁻⁵ M)	Fármacos	
	5-fluorouracil $\lambda = 266 \text{ nm}$	Indometacina $\lambda = 320 \text{ nm}$
	6,91	11,00
	5,00	8,38
	3,07	5,59
	1,23	4,47
	0,69	2,80
	0,50	1,12

Fonte: A autora (2020).

Para a realização das análises, os beads formados dos líquidos iônicos a 50% encapsulados com indometacina foram pesados depois de secos e imergidos em 40 mL de uma solução contendo 20 mL de PBS (solução tampão-fosfato) pH 7,4 e 20 mL de etanol (para dissolução do fármaco que apresenta baixa solubilidade em água), que ficou mantida sob agitação, a 37° C, até dissolução total dos beads. Em seguida, uma alíquota de 1,5 mL da solução resultante foi retirada, diluída para 3 mL na cubeta e levada para análise de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis para calcular a concentração de fármaco presente na solução, a partir das curvas de calibração construídas para os fármacos, conforma a metodologia de Zi-Chen Yin, Yan-Ling Wang e Kun Wang. Para os beads encapsulados com 5-fluorouracil, que apresenta uma solubilidade em água maior que a indometacina, a solução utilizada foi de 30 mL contendo PBS pH 7,4, com análise de alíquotas de 1 mL diluídas para 2 mL na cubeta, seguindo o mesmo procedimento. Os experimentos foram realizados em triplicata (YIN; WANG; WANG, 2018).

Para avaliar o perfil de encapsulamento dos fármacos, foram calculados a porcentagem de encapsulamento do fármaco (massa de fármaco encapsulado em relação à massa dos beads) e a eficiência de encapsulamento nos beads, através das equações 5 e 6:

$$\text{Encapsulamento do fármaco (\%)} = \frac{\text{Massa do fármaco calculada (mg)}}{\text{Massa inicial dos beads (mg)}} \times 100 \quad (5)$$

$$\text{Eficiência de encapsulamento (\%)} = \frac{\text{Massa do fármaco calculada (mg)}}{\text{Massa do fármaco inicial usada (mg)}} \times 100 \quad (6)$$

7.1.2 Caracterização dos beads com fármacos

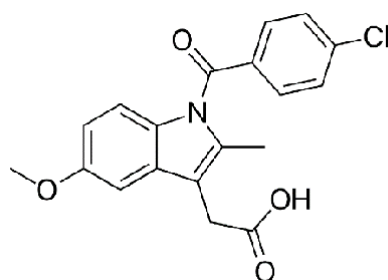
Os beads com os fármacos indometacina e 5-fluorouracil encapsulados foram caracterizados através das técnicas de espectroscopia de absorção no infravermelho (FT-IR) e na região de UV-Vis, para análise e cálculo do encapsulamento na rede polimérica.

7.1.2.1 Espectroscopia na região de infravermelho (FT-IR)

7.1.2.1.1 Indometacina

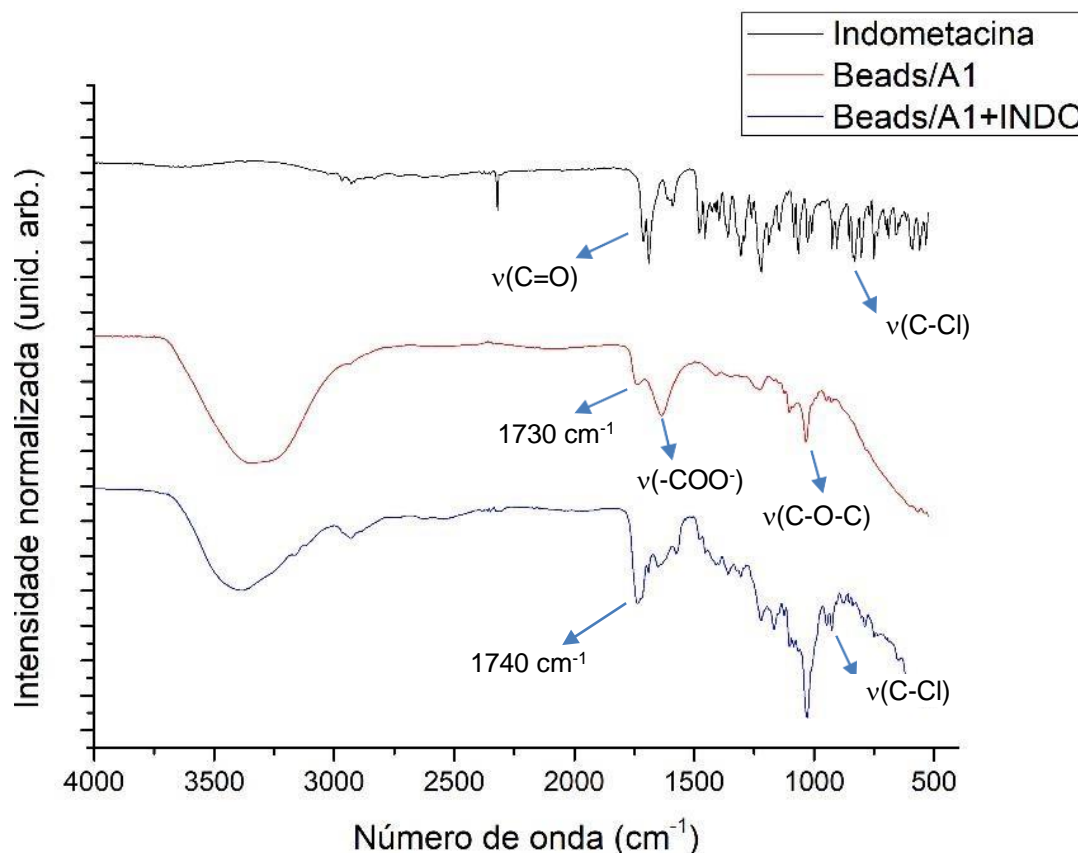
Através da análise da estrutura da indometacina vista nas figuras 16 e 55, juntamente com a análise do seu espectro de infravermelho mostrado nas figuras 56 e 57, foi possível conferir a sua presença nos sistemas beads/A1 e beads/A2. Pelo espectro obtido para sua estrutura, percebe-se que as bandas características vistas em 1690 e 1715 cm^{-1} se referem aos estiramentos dos grupos C=O de grupos amida e ácido carboxílico, respectivamente. Em 750 cm^{-1} , nota-se a presença de uma banda única formada referente ao grupo C-Cl, além do grupo de bandas presentes entre 1500 e 1400 cm^{-1} , atribuídos aos grupos aromáticos. A banda em 1220 cm^{-1} é atribuída ao grupo alquil-éter de aromáticos presente na estrutura da indometacina (LU; LI; LI, 2020).

Figura 55 - Estrutura química do fármaco anti-inflamatório indometacina.



Fonte: RAMA et al. (2005).

Figura 56 - Espectro de infravermelho obtido para o sistema beads/A1 com e sem indometacina.



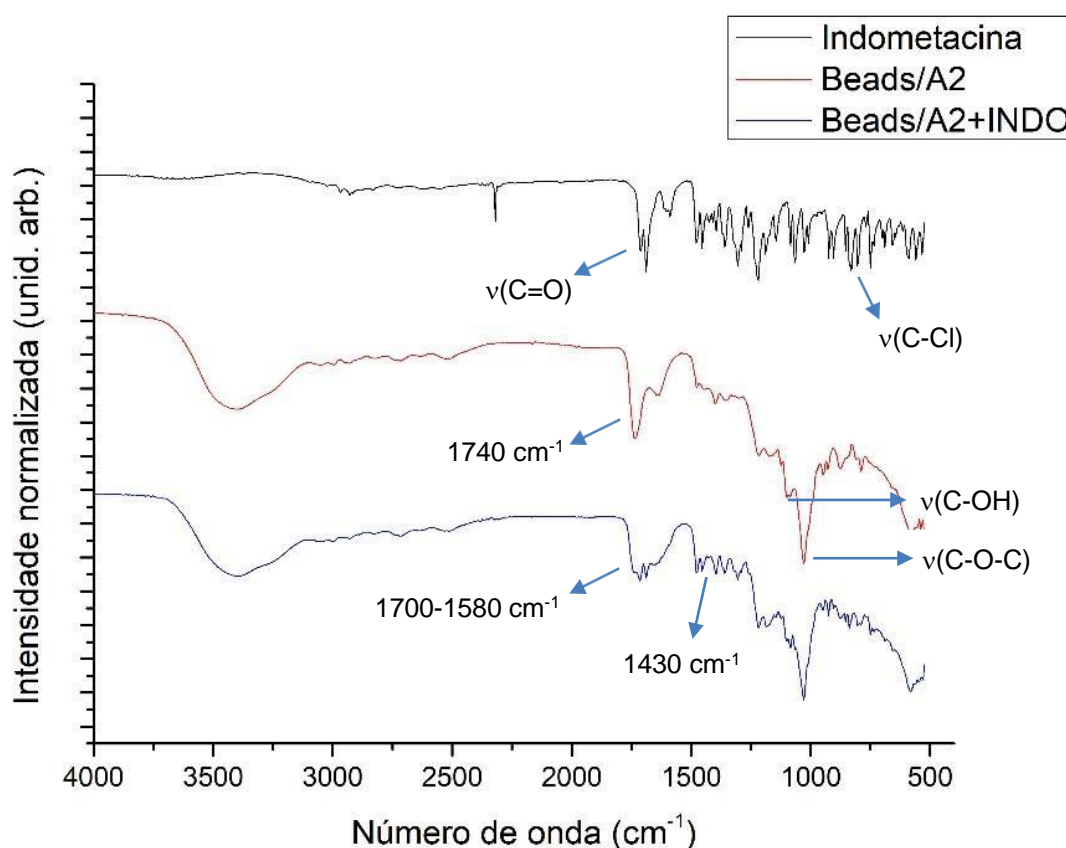
Fonte: A autora (2020).

Segundo o espectro obtido para o sistema beads/A1 carregado com indometacina disposto na figura 56, é possível notar um aumento de intensidade na banda em 1740 cm^{-1} , referente aos grupos carbonila que participam da interação do bead, o qual pode ser proveniente da presença dos grupos $\text{C}=\text{O}$ presentes no fármaco. Há também a presença das bandas referentes aos grupos $\text{C}-\text{Cl}$ e alquil-éter de aromático em 750 e 1220 cm^{-1} , respectivamente, que confirmam a presença da indometacina no sistema inserida através do encapsulamento. Outras bandas presentes no espectro dos beads sem a indometacina demonstram que a estrutura da rede polimérica não foi alterada.

Analisando o espectro obtido para o sistema beads/A2 carregado com indometacina disposto na figura 57, percebe-se que em 1700 cm^{-1} houve uma sobreposição das bandas referentes aos grupos carbonila dos beads e do fármaco, resultando numa banda larga em 1700 e 1580 cm^{-1} . Em 1470 cm^{-1} nota-se a presença

das bandas provenientes da indometacina, referentes aos estiramentos dos grupos aromáticos da sua estrutura, enquanto em 750 cm^{-1} há a presença de uma banda fraca atribuída aos grupos C-Cl da indometacina. As demais bandas características do sistema beads/A2 não tiveram alterações. Isto demonstra que a indometacina também foi encapsulada ao sistema beads/A2, assim como no sistema beads/A1, sem mudar a estrutura da sua rede tridimensional.

Figura 57 - Espectro de infravermelho obtido para o sistema beads/A2 com e sem indometacina.



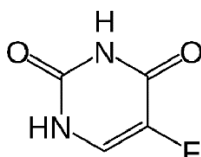
Fonte: A autora (2020).

7.1.2.1.2 5-Fluorouracil

Os espectros de infravermelho obtidos para os sistemas beads/A1 e beads/A2 carregados com 5-fluorouracil estão dispostos nas figuras 59 e 60, respectivamente, e permitiram a análise da estrutura da rede com o fármaco, mostrada nas figuras 17 e 58. No espectro do 5-fluorouracil, aparecem bandas em 3500 e 2850 cm^{-1} referentes ao estiramento dos grupos N-H, e uma banda um pouco larga entre 1200 e 1240 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C-F presente na estrutura do fármaco

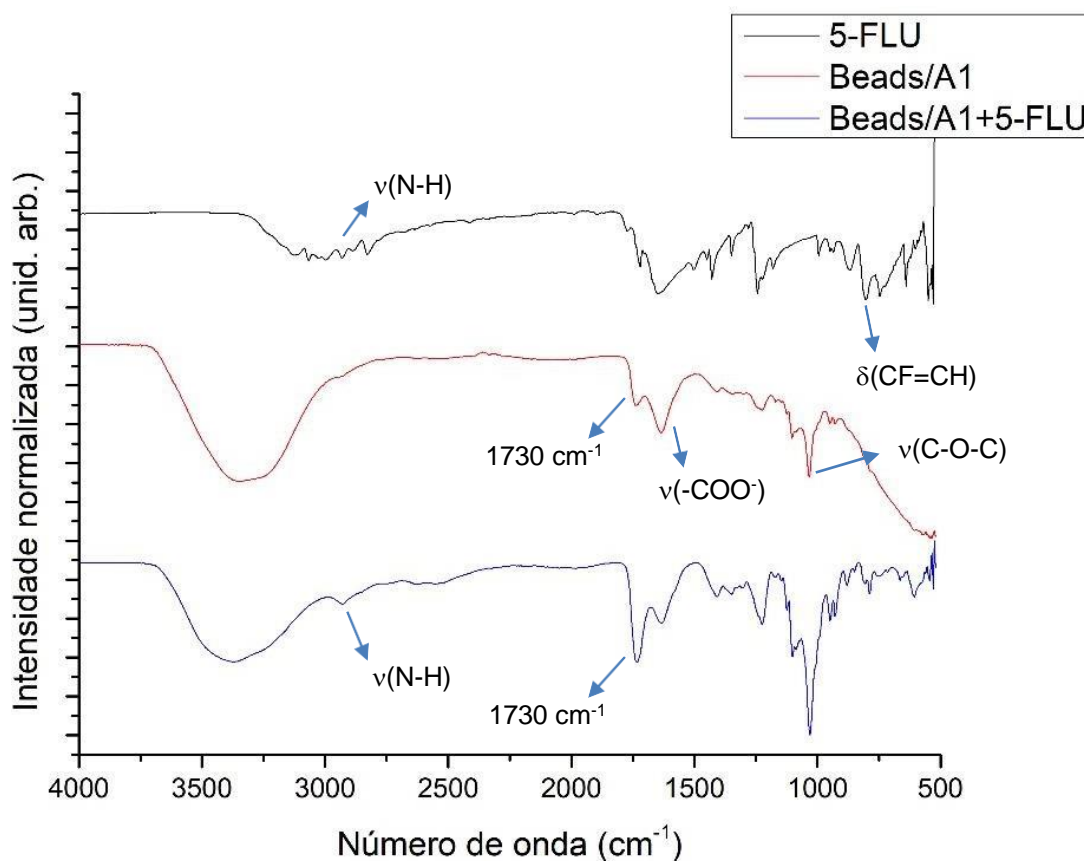
(OLUKMAN; SANH; SOLAK, 2012). A ligação dupla entre os carbonos $\text{CF}=\text{CH}$ do anel apresenta deformação vibracional fora do plano entre 790 e 760 cm^{-1} e as bandas referentes às ligações carbônicas do anel geralmente aparecem entre 1500 e 1400 cm^{-1} (NIVETHAA, E. A. K. et al., 2014; BRUICE et al., 2004).

Figura 58 - Estrutura química do fármaco anti-neoplásico 5-fluorouracil.



Fonte: GHOSHAL; JACOB (1997).

Figura 59 - Espectro de infravermelho obtido para o sistema beads/A1 com e sem 5-fluorouracil.

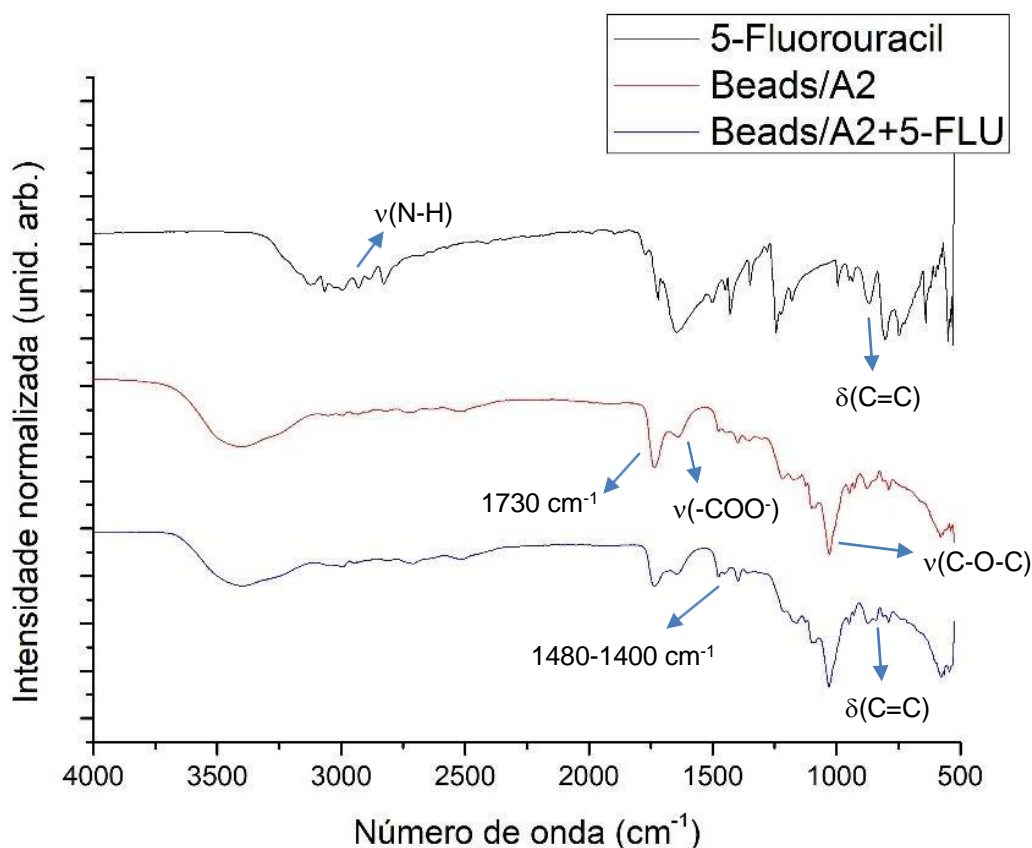


Fonte: A autora (2020).

Analisando o espectro obtido para o sistema beads/A1 carregado com 5-fluorouracil na figura 59, é vista a presença de duas bandas em 787 cm^{-1} e uma banda em 2930 cm^{-1} que não apareceram no espectro do sistema beads/A1. Estas bandas

podem ser atribuídas ao grupo $\text{CF}=\text{CH}$ presente no anel do fármaco e ao estiramento dos grupos N-H , respectivamente, conforme comentado anteriormente. A banda em 1730 cm^{-1} sofreu um aumento de intensidade que pode ser explicado pela presença de grupos C=O do fármaco juntamente com os do sistema beads/A1, além de representar possíveis interações das carbonilas do 5-fluorouracil com as cadeias da rede polimérica do bead. Isto confirma a presença do 5-fluorouracil no sistema beads/A1. No fim, também é possível notar a presença das bandas características do sistema no espectro obtido mesmo após o encapsulamento do fármaco.

Figura 60 - Espectro de infravermelho dos beads/A2 com e sem 5-fluorouracil.



Fonte: A autora (2020).

Para o sistema beads/A2 carregado com 5-fluorouracil, foram observadas no espectro mostrado na figura 60, duas bandas fracas em 865 e 845 cm^{-1} que podem ser atribuídas à deformação da ligação $\text{C}=\text{C}$ presente na estrutura do fármaco. Entre 1400 e 1480 cm^{-1} houve a formação de uma banda que não havia no espectro do sistema beads/A2, a qual pode se referir ao estiramento das ligações carbônicas no anel do 5-fluorouracil, o que permite confirmar a presença do mesmo encapsulado no

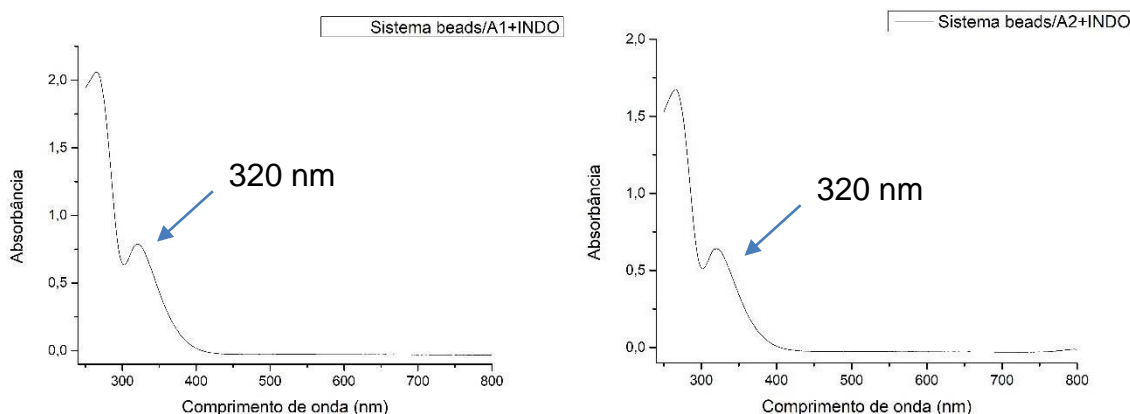
sistema beads/A2. As bandas em 1030 cm^{-1} e 3400 cm^{-1} referentes aos grupos alquil-éter e hidroxilas, respectivamente, são umas das bandas que mostram que a rede polimérica do sistema foi mantida.

7.1.2.2 Espectroscopia de absorção UV-Vis

Os sistemas beads/A1 e beads/A2 com fármacos encapsulados foram submetidos a uma solução de PBS de pH 7,4, para que ocorresse a dissolução total da rede polimérica e todo o fármaco presente ficasse disperso na solução. Assim, em poucos minutos, os beads dissolveram e o fármaco foi disperso no meio. As alíquotas dos sistemas foram levadas para análise de espectroscopia UV-Vis e diluídas na cubeta para análise da absorbância.

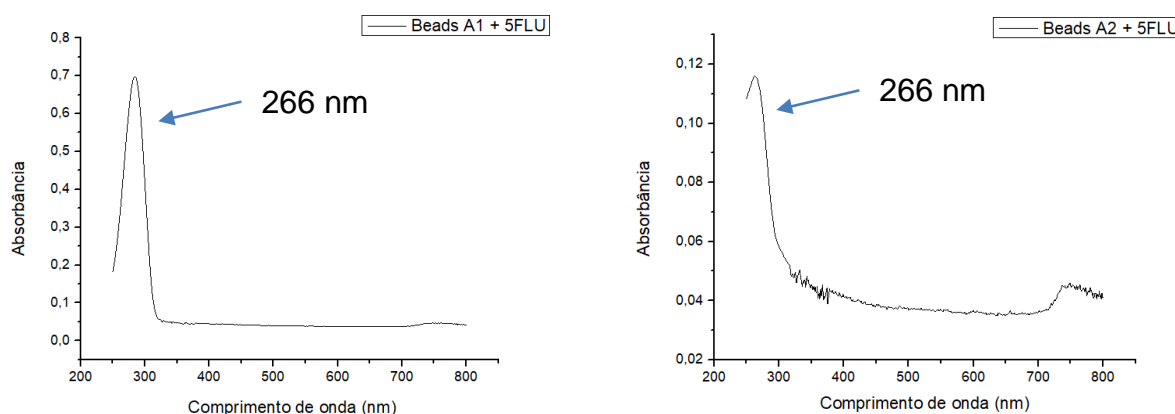
Através dos espectros obtidos, foi possível identificar a presença dos fármacos através das suas bandas características, além de permitir o cálculo do encapsulamento nos materiais. A banda de absorção da indometacina apareceu em 320 nm, bem evidente, enquanto a banda do 5-fluorouracil apareceu em 266 nm, o que demonstra que os fármacos foram encapsulados nos materiais. Os espectros para o encapsulamento da indometacina e do 5-fluorouracil nos sistemas beads/A1 e beads/A2 são demonstrados nas figuras 61 e 62, respectivamente.

Figura 61 - Espectros de absorção na região do UV-Vis para os sistemas beads/A1 (à esquerda) e beads/A2 (à direita) com indometacina encapsulada.



Fonte: A autora (2020).

Figura 62 - Espectros de absorção na região do UV-Vis para os sistemas beads/A1 (à esquerda) e beads/A2 (à direita) com 5-fluorouracil encapsulado.



Fonte: A autora (2020).

7.1.3 Encapsulamento e eficiência de encapsulamento

Pelos valores das absorbâncias obtidas em triplicata pelos espectros das figuras 61 e 62 aplicadas nas curvas de calibração construídas conforme a figura 19, foram calculados o encapsulamento e a eficiência de encapsulamento dos fármacos, considerando a diluição feita nas alíquotas. As concentrações encontradas para a indometacina e o 5-fluorouracil estão dispostas na tabela 3.

Tabela 3 - Massas dos fármacos obtidas a partir das concentrações corrigidas após a diluição e dos valores de absorbância obtidos nos espectros.

Indometacina (MM = 357,77 g/mol)		
Sistema	Absorbância média	Concentração corrigida (10^{-4} M)
Beads/A1	0,7809	4,23
Beads/A2	0,6082	6,70
5-Fluorouracil (MM = 130,07 g/mol)		
Beads/A1	0,6816	12,80
Beads/A2	0,1164	20,80

Fonte: A autora (2020).

Através dos valores das concentrações encontrados, juntamente com a massa molar (MM) de cada fármaco e o volume das soluções utilizados no experimento (40 mL para a indometacina e 30 mL para o 5-fluorouracil), obteve-se as massas de 6,064 mg e 9,593 mg de indometacina encapsulada nos sistemas

beads/A1 e A2, respectivamente, e as massas de 5,007 mg e 8,118 mg de 5-fluorouracil encapsulado nos sistemas beads/A1 e A2, respectivamente. Desta forma, a partir das massas dos beads pesados inicialmente, das massas dos fármacos usadas na preparação dos beads e das massas encontradas pelo valor da absorbância, foi possível calcular o encapsulamento e a eficiência de encapsulamento dos fármacos para cada sistema, onde para isto foram utilizadas as equações 5 e 6 descritas nas páginas 82 e 83, respectivamente. Os valores encontrados estão dispostos nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Resultados do encapsulamento da indometacina nos sistemas beads/A1 e beads/A2.

INDOMETACINA		
Sistema	Encapsulamento (%)	Eficiência de encapsulamento (%)
Beads/A1	13,77	48,48
Beads/A2	23,97	76,72

Fonte: A autora (2020).

Tabela 5 - Resultados do encapsulamento do 5-fluorouracil nos sistemas beads/A1 e beads/A2.

5-FLUOROURACIL		
Sistema	Encapsulamento (%)	Eficiência de encapsulamento (%)
Beads/A1	8,95	40,08
Beads/A2	18,50	64,96

Fonte: A autora (2020).

De acordo com os resultados obtidos, é visto que a maior parte das porcentagens de encapsulamento obtidas para o 5-fluorouracil foram mais baixas do que as obtidas para a indometacina, o que pode ser explicado pelo fato de que o 5-fluorouracil é um fármaco fotossensível, e possivelmente, parte da massa pode ter sido degradada em algum momento da preparação ou da análise, apesar de todo o procedimento ter sido feito no escuro e utilizando frascos de âmbar. Na comparação entre os sistemas, nota-se que tanto o encapsulamento quanto a eficiência de encapsulamento foram maiores para o sistema beads/A2, com os dois fármacos, o que demonstra que os beads preparados com o LI A2 acomodam uma quantidade maior de fármaco em seu interior, ou seja, apresentam uma área superficial maior em suas cavidades.

B. Arica et al. também analisaram e calcularam o encapsulamento de 5-fluorouracil em beads de alginato reticulados com CaCl_2 . Para o encapsulamento, foi encontrado um valor de 10,00%, enquanto que para a eficiência de encapsulamento foi encontrado um valor de 11,40% de 5-fluorouracil no sistema, o que demonstra que o encapsulamento nos sistemas beads/A1 e A2 apresentou resultados razoáveis. Já Zi-Chen Yin, Yan-Ling Wang e Kun Wang calcularam o encapsulamento da indometacina em beads de alginato com ágar reticulados com CaCl_2 , obtendo os valores de 17,91% e 71,62% para o encapsulamento e para a eficiência de encapsulamento do fármaco, respectivamente. Isto demonstra que os resultados foram similares, com valores médios próximos aos obtidos nos sistemas beads/A1 e A2 encapsulados com indometacina (ARICA; B., 2001; YIN et al., 2017).

7.2 PERFIL DE LIBERAÇÃO

7.2.1 Método experimental: liberação

Os beads encapsulados com 5-fluorouracil foram inseridos numa solução de 40 mL de solução tampão de pH 1,2 a 37° C, sob agitação, durante 7 h, seguindo a metodologia de D. Sathya Seelia et al. (SEELI, D. S. et al., 2016). Em intervalos de 40 minutos até completar 2 horas, e de 1 hora até completar 7 horas, foram retiradas alíquotas de 10 µL, as quais foram diluídas para 2 mL e levadas para análise de espectroscopia de absorção na região UV-Vis para cálculo da concentração do fármaco liberado na solução, a partir das curvas de calibração construídas. Já os beads encapsulados com indometacina foram inseridos numa solução de 12 mL contendo 2,4 mL da solução tampão de pH 1,2 e 9,6 mL de etanol, para dissolução do fármaco, submetidos a 37° C, sob agitação, durante 7 h. Neste caso, também foram retiradas alíquotas de 50 µL para análise no equipamento e cálculo da concentração do fármaco liberado. No procedimento, as alíquotas foram retiradas, diluídas para 2 mL e analisadas em triplicata. O volume das alíquotas retiradas não foi repostado ou readicionado ao final da retirada de cada amostra devido ao fato de que o mesmo não ultrapassou o valor de 2% do volume total da solução, o que não interfere muito na concentração final da solução, já que é uma quantidade comumente perdida através

da evaporação da água na solução durante o procedimento.

Foram construídas curvas da porcentagem de massa de fármaco liberada (percentual da massa de fármaco dissolvida na solução em relação à massa inicial de fármaco encapsulado) *versus* tempo para os dois fármacos, com uma faixa de tempo de 0-7 h, as quais foram linearizadas para estudo do mecanismo de liberação.

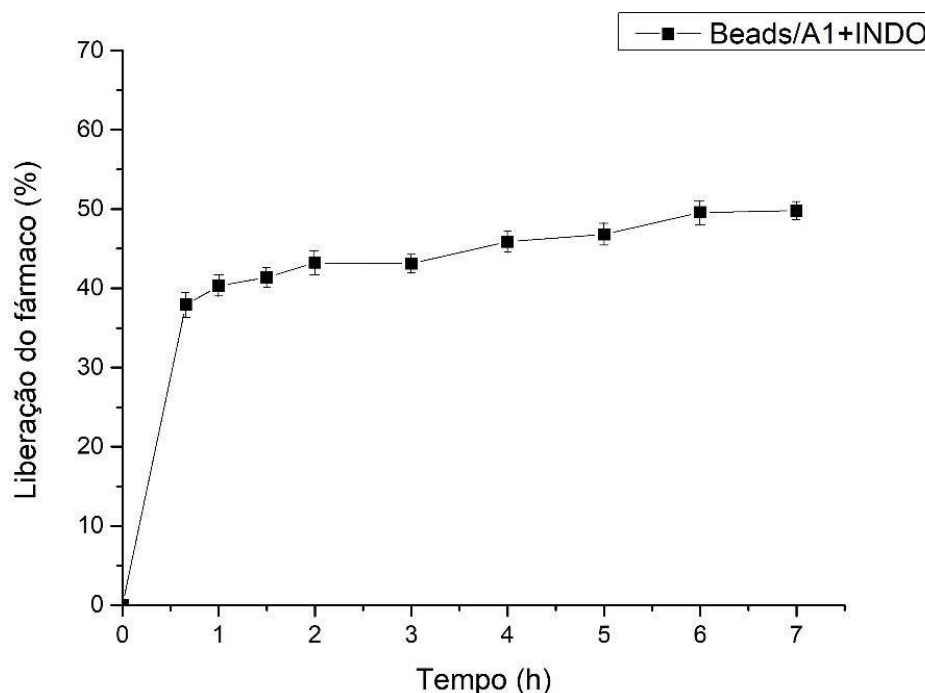
7.2.2 Liberação dos fármacos e estudo do mecanismo de liberação

O estudo da liberação dos fármacos a partir dos sistemas beads/A1 e beads/A2 com os líquidos iônicos a 50% foi realizado apenas para o pH 1,2, já que para valores de pH igual ou acima de 6,0, ocorre a dissolução total dos beads em poucos minutos, conforme demonstrado no item 5.8. Desta forma, as alíquotas retiradas do sistema nos intervalos de tempo descritos no item 6.5.2., foram levadas para análise de espectroscopia de UV-Vis.

Para cada uma das alíquotas, foi possível identificar as bandas da indometacina e do 5-fluorouracil apenas para o sistema beads/A1, o que significa que os fármacos não foram liberados do sistema beads/A2. Como o pH do sistema na liberação é ácido, podem ter ocorrido interações entre as cadeias da rede polimérica do material decorrente da protonação de alguns grupos carboxilato, e consequentemente, pode ter impedido a difusão do fármaco para o meio externo. Assim, não foi possível analisar a liberação dos fármacos pelo sistema beads/A2.

Pelos valores de absorbância médios obtidos, foram calculadas as concentrações dos fármacos medidas em cada intervalo de tempo, considerando as diluições feitas nas alíquotas, e, no fim, as massas dos fármacos liberadas no sistema. Desta forma, foram obtidas as curvas de liberação dos fármacos para o sistema beads/A1. A figura 63 demonstra a curva da liberação da indometacina pelo sistema beads/A1.

Figura 63 - Liberação da indometacina a partir do sistema beads/A1 sob pH 1,2.



Fonte: A autora (2020).

Na liberação da indometacina, é possível perceber uma alta massa sendo liberada até os primeiros 40 minutos antes da liberação atingir um perfil estável, o que indica a ocorrência do “*burst effect*”, efeito de arrebentar ou ainda efeito de explosão (HUANG; BRAZEL, 2001). Este efeito consiste num fenômeno no qual ocorrem altas taxas de liberação nos estágios iniciais, a partir de sistemas de liberação de fármacos, resultando numa liberação rápida e imediata. Geralmente, sistemas que apresentam um perfil de liberação com efeito explosão são utilizados em estratégias de administração de fármacos em casos onde a liberação de fármaco rápida é desejada. Farhana Yasmin, Xiongbiao Chen e B. Frank Eames observaram o *burst effect* ou efeito explosão na liberação de um modelo de proteína (BSA) a partir de beads de alginato, onde a taxa de liberação atingiu 35% nas primeiras medidas do experimento (YASMIN; CHEN; EAMES, 2019).

Conforme a figura 63, o efeito explosão ocorreu com a liberação de 37,94% de fármaco, seguido de um aumento brando, quase constante, na taxa de liberação até atingir o final do experimento. A liberação da indometacina em 7 horas foi de 49,80%, mantendo-se em valores próximos a este, o que significa que menos da metade do fármaco foi liberado em 7 horas sob as condições de pH ácido. Mesmo assim, a partir

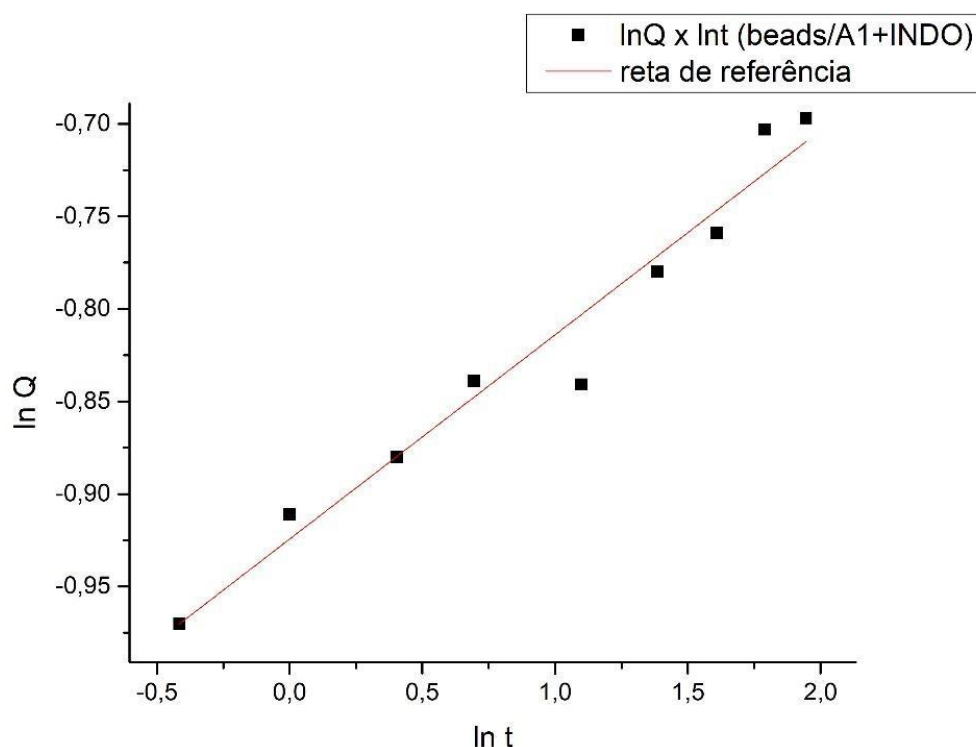
dos primeiros 40 minutos, a liberação apresentou um perfil sustentado até o final das sete horas do experimento. Para a análise da liberação de 100% da indometacina pelo sistema beads/A1, deve ser feito um estudo de liberação durante vários dias, o que resulta numa liberação lenta e controlada se o mesmo perfil for mantido durante o tempo do experimento.

Zi-Chen Yin, Yan-Ling Wang e Kun Wang também observaram um perfil de liberação sustentada iniciando antes da primeira hora até o final do experimento para a liberação de indometacina a partir de beads de alginato e ágar reticulados com CaCl_2 . Eles obtiveram uma liberação de aproximadamente 5% do fármaco em 1 hora de experimento, seguida de uma liberação sustentada mantida entre 5% e 6% até o final do experimento com duração de 11 h, também sob pH ácido (YIN et al., 2017).

Comparando com os resultados obtidos para a variação do grau de intumescimento com o tempo sob pH 1,2 do sistema beads/A1 (figura 50), nota-se que apesar do intumescimento ser baixo na primeira hora de experimento, boa parte da indometacina foi liberada até completar 1 hora, apresentando leves aumentos até a sexta hora de experimento. Isto leva a pensar que a difusão da indometacina por este sistema ocorre num intervalo pequeno de tempo, mesmo com baixas quantidades de solvente absorvidas, o que depende da relação inicial da difusão com o tempo, descrita pelo tipo de mecanismo ocorrente.

A fim de estudar o mecanismo de liberação da indometacina pelo sistema beads/A1, foi utilizado o modelo de Korsmeyer-Peppas, onde para o qual foi calculado o valor de Q , conforme a equação 1 (KORSMEYER et al., 1983). Os valores das massas calculadas pelas absorbâncias para cada intervalo de tempo (M_t) juntamente com o valor da massa inicial de fármaco usada na preparação dos beads, ou seja, a massa quando ocorre 100% de liberação (M_∞) foram utilizados para o cálculo de Q . Em seguida, foi realizada a linearização da curva de liberação a partir deste modelo para a obtenção dos parâmetros necessários para a análise do mecanismo de liberação, traçando uma curva de $\ln Q$ versus $\ln t$ (figura 64), conforme a equação 2.

Figura 64 - Linearização da curva de liberação da indometacina obtida a partir do modelo de Korsmeyer-Peppas para o sistema beads/A1 sob pH 1,2.



Fonte: A autora (2020).

Pela linearização da curva e considerando o diâmetro médio dos beads como sendo 1,06 mm, foram obtidos os valores do coeficiente angular (n), do coeficiente linear ($\ln k$) e do coeficiente de correlação R^2 , a partir dos quais foi calculado o valor do coeficiente de difusão (D), conforme a equação 3. Estes dados estão dispostos na tabela 6.

Tabela 6 - Dados obtidos a partir da linearização do modelo de Korsmeyer-Peppas para o sistema beads/A1 com indometacina.

Liberação da indometacina pelo sistema beads/A1				
n	$\ln k$	$k (s^{-1})$	R^2	$D (cm^2/s)$
0,1104	-0,924	0,3969	0,9565	$7,19 \cdot 10^{-12}$

Fonte: A autora (2020).

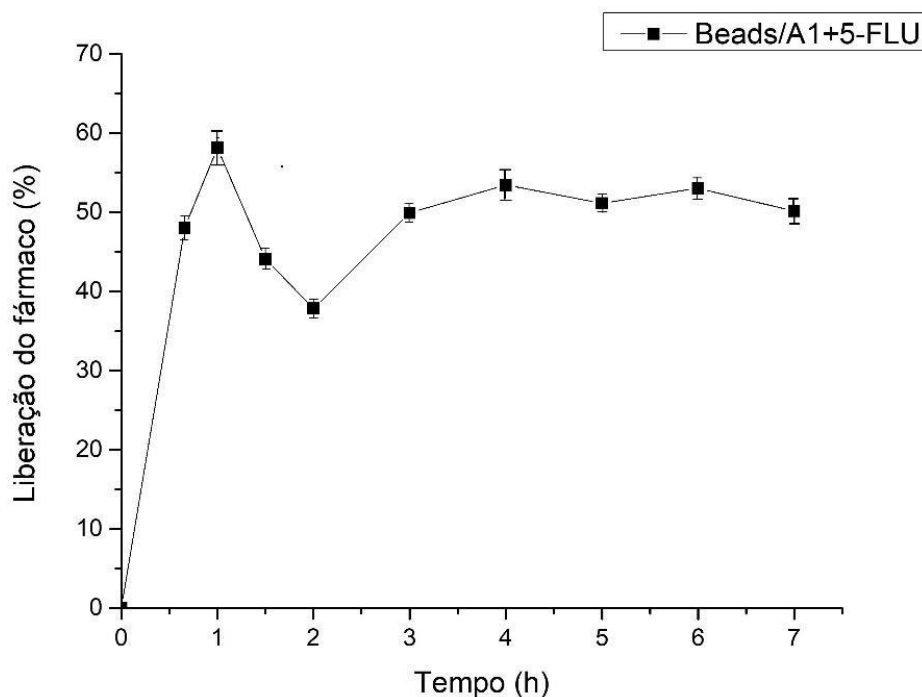
O valor do coeficiente de correlação R^2 obtido foi menor que 0,99, porque a linearização do modelo aplicado para este sistema não foi muito adequada. Desta forma, os valores dos parâmetros calculados podem não condizer com os valores reais aos quais os mesmos correspondem. Mesmo assim, pode-se ter uma ideia

aproximada do seu significado para tentar entender a liberação do fármaco pelo sistema.

Pela tabela 1, observa-se que para sistemas poliméricos esféricos, como o caso dos beads obtidos, os mecanismos de difusão do fármaco pela rede variam com o valor de n . O menor valor de n descrito pelo modelo de Korsmeyer-Peppas é igual a 0,43, que corresponde ao mecanismo da difusão fickiana (KORSMEYER et al., 1983). Para valores entre 0,43 e 0,85 ou igual a 0,85, são apresentados os mecanismos de difusão não-fickiana. Como o valor de n obtido para este sistema foi de 0,1104, o mecanismo de difusão ocorre através de um transporte anômalo que não pode ser descrito por este modelo. Isto depende da forma como as moléculas do fármaco estão distribuídas na estrutura, fazendo surgir forças de compressão ou de tração entre as cadeias, o que faz com que a rede não tenha a mobilidade esperada para relaxar e difundir o fármaco comumente (SUJJA-AREEVATH et al., 1998). Neste caso, outros modelos também podem ser testados a fim de investigar como ocorre o mecanismo de liberação da indometacina pela rede polimérica dos beads.

O valor baixo obtido para o coeficiente de difusão D pode estar relacionado com as interações presentes entre o fármaco e a rede polimérica, que podem interferir na velocidade de difusão do fármaco pelo sistema. Isto, por sua vez, pode afetar também os valores de n , que descrevem o tipo do mecanismo ocorrente no sistema e a dependência da difusão com o tempo. Merve Olukman, Oya Sanh e Ebru Kondolot, por exemplo, obtiveram um valor de $55,1 \times 10^{-13} \text{ cm}^2/\text{s}$ para o coeficiente de difusão do 5-fluorouracil pela rede polimérica de beads de alginato reticulados com FeCl_3 , valor ainda menor que o obtido para o sistema beads/A1 (OLUKMAN; SANH; SOLAK, 2012).

Para a liberação do 5-fluorouracil a partir do sistema beads/A1, foi obtida a curva da liberação da massa de fármaco com o tempo, conforme mostrado na figura 65:

Figura 65 - Liberação do 5-fluorouracil a partir do sistema beads/A1 sob pH 1,2.

Fonte: A autora (2020).

A liberação do 5-fluorouracil a partir do sistema beads/A1 apresentou um comportamento diferente da liberação da indometacina pelo mesmo sistema. No início do experimento, foi atingida uma alta de liberação de 58,05% em apenas 1 hora, indicando a ocorrência do efeito explosão neste estágio. Porém, entre 1 e 2 horas, houve uma queda na liberação de 58,05% para 37,84%, sofrendo um aumento até 50,16%. Esta diminuição da massa do 5-fluorouracil presente no meio pode ser proveniente de interações ou forças intermoleculares no sistema estimuladas pelo pH ácido do experimento. Já o aumento na liberação que volta a acontecer a partir da segunda hora, pode ser resultante da diminuição do potencial químico do fármaco dentro do sistema, fazendo com que ele seja reabsorvido. Em seguida, é apresentado um perfil de liberação estável ou sustentada a partir da terceira hora, que, conforme a curva da variação do grau de intumescimento com o tempo sob pH 1,2 na figura 50, é o tempo em que o sistema atinge o equilíbrio de intumescimento. No final das 7 horas de experimento, a liberação atingiu 48,50%.

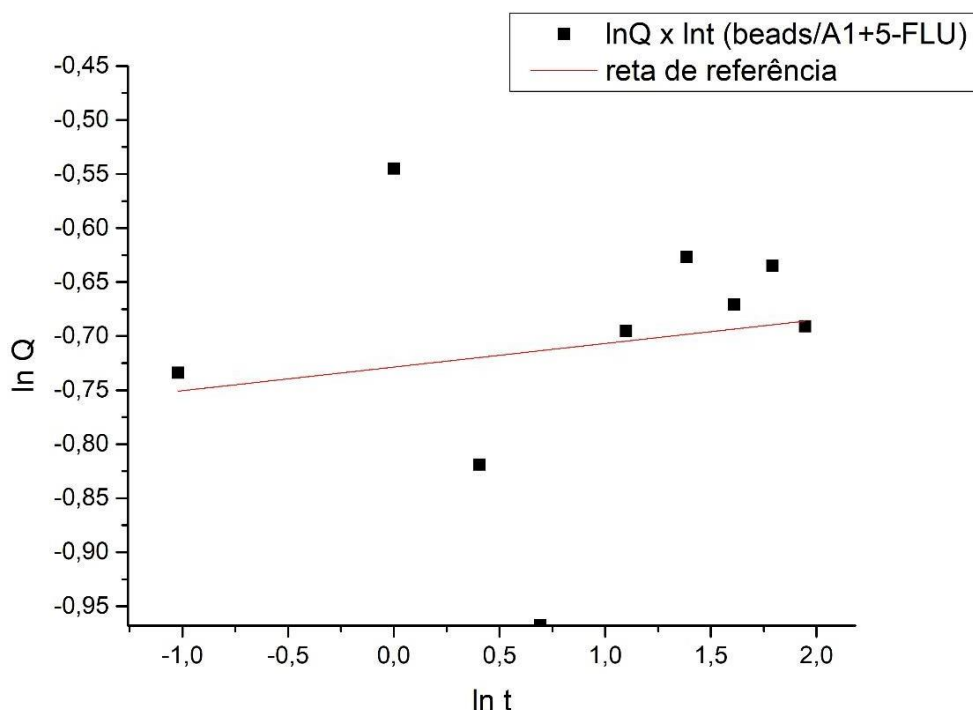
Um comportamento parecido foi observado por Chul Ho Park e Jonghwi Lee, em 2010, os quais realizaram a liberação da enzima lisozima a partir de nanofibras de poli(ácido láctico). Em seus resultados, foi observado um aumento crescente da taxa

de liberação até 15,10% que foi seguido de uma diminuição até 14,00%, voltando a aumentar e atingir um estado estável, o que foi explicado pela existência de interações eletrostáticas entre a lisozima e o sistema polimérico utilizado como veículo. As interações ocorrentes diminuíram a taxa de difusão da enzima pela rede polimérica, o que resultou numa liberação permanente após um certo tempo (PARK; LEE, 2010).

Já B. Arica et al. também observaram um perfil de liberação controlada a partir da terceira hora de experimento para a liberação de 5-fluorouracil a partir de beads de alginato reticulados com CaCl_2 . Eles obtiveram uma liberação de aproximadamente 87% do fármaco até a terceira hora, atingindo então uma liberação sustentada até o final de 7 horas, no fim do experimento (ARICA; B., 2001; YIN et al., 2017).

O modelo de Korsmeyer-Peppas também foi aplicado para este sistema, onde foram calculadas as massas M_t , usando também o valor de M_∞ , para calcular o valor de Q (KORSMEYER et al., 1983). Porém, como é possível notar através da figura 66, a linearização da curva pelo modelo não foi adequada, resultando num coeficiente de correlação R^2 igual a -0,109. Isto faz com que não seja possível o estudo do mecanismo de difusão do 5-fluorouracil pelo material, já que a liberação do fármaco apresentou um comportamento diferente do obtido para a liberação da indometacina pelo sistema beads/A1. Neste caso, outros modelos podem ser aplicados para tentar estudar como ocorre o mecanismo de difusão do 5-fluorouracil pela rede polimérica.

Figura 66 - Linearização da curva de liberação do 5-fluorouracil obtida a partir do modelo de Korsmeyer-Peppas para o sistema beads/A1 sob pH 1,2.



Fonte: A autora (2020).

Testes de liberação dos fármacos a partir dos sistemas beads/A1 e beads/A2 em outras condições como temperatura e pH do meio, ou ainda diferentes concentrações de LI ou alginato, podem ajudar a entender o mecanismo ocorrente na liberação, diante de possíveis resultados diferentes que podem ser obtidos. Além disso, outros experimentos de liberação dos fármacos devem ser realizados para o sistema beads/A2 a fim de analisar o comportamento da liberação pelo sistema, o qual não foi possível estudar por meio das condições utilizadas neste trabalho.

8 CONCLUSÕES

Os resultados das análises realizadas para a caracterização dos beads de hidrogel indicaram importantes características do material. Como os beads foram obtidos apenas a partir dos LIs A1 e A2, ao passo que os LIs A3 e A4 não atuaram na sua formação, foi possível atribuir explicações a respeito das interações existentes na rede polimérica. Em relação à sua morfologia, conclui-se que a concentração de LI utilizada na formação dos beads define o quão gelatinosos ou firmes eles serão, já que os beads formados com concentração de LI a 50% demonstraram visivelmente maior firmeza. Já a presença de cavidades e ranhuras porosas na estrutura dos beads vistas pelas imagens de MEV obtidas, conferem ao material a possibilidade de encapsular fármacos ou outros solutos.

Os espectros de infravermelho e Raman obtidos permitiram a análise dos grupos funcionais e das interações existentes entre as cadeias poliméricas da rede tridimensional dos beads, fazendo com que fosse possível observar uma reticulação iônica na estrutura dos sistemas beads/A1 e beads/A2. Isto conferiu a possibilidade de propôr configurações para a reticulação da rede polimérica, permitindo compreender as interações iônicas e as pontes de hidrogênio presentes no material. Já a análise de TGA permitiu entender que o sistema beads/A1 não sofre aumento de estabilidade térmica com o aumento da concentração do LI, enquanto que o sistema beads/A2 apresentou aumento da estabilidade térmica até 50%, demonstrando permanecer constante após este valor. Apesar da diferença de estabilidade obtida entre os sistemas em diferentes concentrações ser baixa, a variação da concentração de LI demonstra um comportamento diferente do esperado, considerando que o LI atua como agente reticulante. Analisar variações na concentração de alginato na rede também é pertinente para conferir sua influência no grau de reticulação e na estabilidade do sistema.

Resultados obtidos no cálculo do grau de intumescimento permitiram notar que a repulsão eletrostática entre os grupos carboxilato da estrutura sob pH neutro ou básico e a protonação dos mesmos sob pH ácido fazem com que os beads dissolvam completamente em minutos sob pH 6,0 ou maior que 6,0 e se mantenham estáveis sob pH 1,2 durante horas. Esta sensibilidade ao pH faz com que haja uma seletividade

sobre o meio no qual o material será utilizado como carreador, como meios neutros ou ácidos do sistema gastro-intestinal, por exemplo. Os valores do grau de intumescimento também permitiram observar que a maior possibilidade de formação de pontes de hidrogênio causada pelo aumento da concentração do LI permite uma maior interação com as moléculas de água, fazendo com que, neste caso, o grau de intumescimento aumente com o aumento da concentração.

Através dos dados obtidos pela espectroscopia de UV-Vis e pela espectroscopia no infravermelho para o encapsulamento dos fármacos, conclui-se que tanto a indometacina quanto o 5-fluorouracil foram encapsulados nos sistemas beads/A1 e beads/A2, já que foi possível observar bandas específicas de sua estrutura nos espectros obtidos para os sistemas. Além disso, não houve formação de bandas que mostrassem mudança na estrutura da rede tridimensional polimérica, garantindo que a rede foi mantida. A eficiência de encapsulamento calculada demonstra que o sistema beads/A2 apresenta uma maior capacidade de absorver os fármacos em seu interior. O sistema beads/A2 não demonstrou liberar os fármacos encapsulados, enquanto o sistema beads/A1 liberou a indometacina e o 5-fluorouracil sob pH 1,2. O *burst effect* ou efeito explosão ocorrente na liberação dos fármacos pelo sistema demonstra que apesar de indicar um perigo farmacológico causado pela rápida liberação do fármaco para o meio, o sistema pode ser direcionado a estratégias de administração de drogas em tratamentos de feridas, por exemplo, onde é necessária uma liberação rápida para um alívio imediato, seguida de uma liberação prolongada para promover uma cura gradual (SETTERSTORM, J. A. et al., 1984). O modelo cinético de liberação de fármacos de Korsmeyer-Peppas não foi o adequado para analisar o mecanismo da taxa de liberação da indometacina e do 5-fluorouracil a partir dos sistemas, sendo necessária a aplicação de outros modelos como os de Higuchi, Hixson-Crowell e Baker- Lonsdale, por exemplo (COSTA; LOBO, 2001).

Enfim, os líquidos iônicos A1 e A2 são compostos promissores no que diz respeito a processos de reticulação para formação de beads de hidrogel, os quais podem ser direcionados a aplicações diversas no campo da biotecnologia. O encapsulamento dos fármacos nos sistemas foi confirmado pelas técnicas de caracterização, o que faz com que estes materiais apresentem potencial aplicação como carreadores de fármacos, apesar de os resultados para os testes de liberação

precisarem ser otimizados e melhorados. No geral, este trabalho abre portas para trabalhos futuros envolvendo a utilização de líquidos iônicos como agentes reticulante e biopolímeros na formação de materiais carreadores de fármacos.

9 PERSPECTIVAS

- Estudar outras concentrações de líquidos iônicos na formação dos beads de hidrogel de alginato para analisar o comportamento do material através da mudança na estabilidade e no grau de intumescimento.
- Realizar repetições nos testes de liberação dos fármacos pelos sistemas sob outras condições e outras concentrações de líquido iônico.
- Realizar os testes de liberação sob pH ácido durante 30 dias para os sistemas formados com líquidos iônicos em concentrações mais baixas, a fim de analisar como ocorre a liberação total do fármaco.
- Aplicar outros modelos cinéticos de liberação de fármacos para analisar o mecanismo de liberação da indometacina e do 5-fluorouracil a partir dos sistemas.
- Realizar testes de citotoxicidade nos sistemas carregados com os fármacos, além de testes *in vivo* em diferentes linhagens celulares para avaliar a biocompatibilidade do material.

REFERÊNCIAS

- ABBASIAN, M. et al. Preparation of AnionExchange Resin Based on Styrene-Divinylbenzene Copolymer Obtained by Suspension Polymerization Method. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**. v. 50, n. 15, p. 1606-1612, 2011.
- AHMED, E.M. et al. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. **J. Adv. Res.** v. 6, p. 105-121, 2015.
- ALMURISI, S.H. et al. Taste masking of paracetamol encapsulated in chitosan-coated alginate beads. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**. v. 56, p. 101520, 2020.
- AMARASEKARA, A. S.; OWEREH, O. S. Hydrolysis and Decomposition of Cellulose in Brønsted Acidic Ionic Liquids Under Mild Conditions. **Eng. Chem. Res.** v. 48, p. 10152–10155, 2009.
- ARICA, B. et al. 5-Fluorouracil encapsulated alginate beads for the treatment of breast cancer. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 242, p. 267–269, 2002.
- ARMAND, M. et al. Ionic-liquid materials for the electrochemical challenges of the future. **Nature Materials**. v. 8, p. 621–629, 2009.
- ASNANI, G.P.; BAHEKAR, J.; KOKARE, C.R. Development of novel pH–responsive dual crosslinked hydrogel beads based on Portulaca oleracea polysaccharide-alginate-borax for colon specific delivery of 5-fluorouracil. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**. 2018.
- AUGST, A. D.; KONG, H. J.; MOONEY DJ. Alginate hydrogels as biomaterials. **Macromol Biosci.** v. 6, p. 623-633, 2006.
- BATISTA, J. G. S. **Desenvolvimento de matrizes poliméricas biodegradáveis à base de quitosana e possíveis blendas como sistemas de liberação controlada de fármacos**. Dissertação (mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear – Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2015.
- BAYOMI, S. M.; AL-BADR, A. A. **Analytical Profiles of Drug Substances**. v. 18, New York: Academic Press, p. 599-639, 1989.
- BHUNIA, P. et al. Chelating polyacrylonitrile beads for removal of lead and cadmium from waste water. **Separation and Purification Technology**. v. 193, p. 202–213, 2018.
- BÍBLIA, A. T. Provérbios. Bíblia Sagrada. Português. **Revista e Atualizada**. Traduzida de João Ferreira de Almeida. São Paulo: Sociedade Bíblica do Brasil, 1999. p. 441.

BICA, K. et al. In search of pure liquid salt forms of aspirin: ionic liquid approaches with acetylsalicylic acid and salicylic acid. **Phys. Chem. Chem. Phys.** v. 12, p. 2011–2017, 2010.

BOONTHEEKUL, T.; KONG, H. J.; MOONEY, D. J. Controlling alginate gel degradation utilizing partial oxidation and bimodal molecular weight distribution. **Biomaterials**. v. 26, p. 2455–2465, 2005.

BOTARO, V. R.; SANTOS, C. G.; OLIVEIRA, V. A. Superabsorbent hydrogels based on cellulose acetate modified by 3,3'-dianhydride, 4,4'-tetracarboxylic benzophenone (BTDA): synthesis, characterization and physico-chemical studies of absorption. **Polymers**. v. 19, n. 4, p. 278-284, 2009.

BOUHADIR, K. H.; ALSBERG, E.; MOONEY, D. J. Hydrogels for combination delivery of antineoplastic agents. **Biomaterials**. v. 22, p. 2625–2633, 2001.

BRUICE, P. Y. et al. **Química Orgânica**. 4ª ed. Prendice Hall, 2004.

CAETANO, M. J. L. A descoberta da vulcanização. CTB, 2019. Disponível em: <<https://www.ctborracha.com/borracha-sintese-historica/vulcanizacao/>> Acesso em 10 de janeiro de 2020.

CARBINATTO, F. M. **Matrizes poliméricas reticuladas de alta amilose e pectina para liberação controlada de fármacos**. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

CARDOT, J. M. Tratado de biofarmácia e farmacocinética. Quebec: Ciência e técnica, 1997.

CASSOL, C. C. A simple and practical method for the preparation and purity determination of halide-free imidazolium ionic liquids. **Advanced Synthesis & Catalysis**. v. 348, n. 1-2, p. 243-248, 2006.

CAVALLARO, G. et al. Alginate gel beads filled with halloysite nanotubes. **Applied Clay Science**. v. 72, p. 132-137, 2013.

COMPOSADA, J. et al. Physical properties of sodium alginate solutions and edible wet calcium alginate coatings. **LWT – Food Sci. Technol.** v. 64, 2015.

COSTA, M. C. M. **Caracterização de Polímeros Inteligentes para Aplicações Biomédicas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **Eur. J. Pharm. Sci.** v. 13, p. 123-133, 2001.

CRISPIN, H. G. C.; ULISSES, F.; ADRIANA, N. S. Alginato bacteriano: aspectos tecnológicos, características e produção. **Quim. Nova**. v. 31, n. 7, p. 1800-1806, 2008.

CROW, B. B.; NELSON, K. D. Release of bovine serum albumin from a hydrogel-cored biodegradable polymer fiber. **Biopolymers**. v. 81, p. 419-427, 2006.

DAHMEN, J. et al. Bromoetilglicosídeos: síntese e caracterização. **Carbohydrate Research**. v. 116, n. 2, p. 303-307, 1983.

DAI, Y. et al. A novel pH sensitive N-succinyl chitosan/alginate hydrogel bead for nifedipine delivery. **Biopharm. Drug Dispos.** v. 29, p. 173-184, 2008.

DANCKWERTS, M.; FASSIHI, A. Implantable controlled release drug delivery systems. A review. **Drug Develop. Ind. Pharm.** v. 17, n. 11, p. 1465-1502, 1991.

DAVIS, K. A.; ANSETH, K. S. Controlled release from crosslinked degradable networks. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**. [S. I.], v. 19, p. 385-423, 2002.

DEL POPOLO, M. G.; VOTH, G. A. On the Structure and Dynamics of Ionic Liquids. **J. Phys. Chem. B**. v. 108, p. 1744-1752, 2004.

DOWDING, P. J.; VINCENT, B. Suspension polymerisation to form polymer beads.

Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. v. 161, p. 259-269, 2000.

DRAGET, K. I. **Handbook of Hydrocolloids**. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, p. 379-395, 2000.

DRURY, J. L.; BOONTHEEKUL, T.; MOONEY, D. J. Cellular cross-linking of peptide modified hydrogels. **J Biomech Eng-Trans ASME**. p. 127:220-228, 2005.

ECHALIER, C. et al. Métodos químicos de reticulação para encapsulação celular em hidrogéis. **Materials Today Communications**. v. 20, p. 100536, 2019.

EGOROVA, K. S.; GORDEEV, E. G.; ANANIKOV, V. P. Atividade Biológica de Líquidos Iônicos e Sua Aplicação em Farmacêutica e Medicina. **Chemical Reviews**. v. 117, n. 10, p. 7132-7189, 2017.

EISELT, P.; LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Rigidity of two-component hydrogels prepared from alginate and poly(ethylene glycol)-diamines. **Macromolecules**. v. 32, p. 5561-5566, 1999.

ESAM, A. E. et al. Chitosan physical forms: a short review. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**. v. 5, n. 5, p. 670-677, 2011.

ÉVORA, M. C. et al. Comparação de Técnicas FTIR de Transmissão, Reflexão e Fotoacústica na Análise de Poliamida-6, Reciclada e Irradiada. **Polímeros**. v.12, n. 1, p. 60-68, 2002.

FACCHI, D.P. et al. New magnetic chitosan/alginate/Fe₃O₄@SiO₂ hydrogel composites applied for removal of Pb(II) ions from aqueous systems. **Chem. Eng. J.** v. 337, p. 595-608, 2018.

FECHINE, G. J. M.; BARROS, J. A. G., CATALANI, L. H. Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) Hydrogel Production by Ultravioleta Radiation: New Methodologies to Accelerate Crosslinking. **Polymer**. v. 45, p. 4705-4709, 2004.

FENG, C. et al. Immobilization of Coacervate Microcapsules in Multilayer Sodium Alginate Beads for Efficient Oral Anticancer Drug Delivery. **Biomacromolecules**. v. 15, p. 985–996, 2014.

FERNANDES, R. S. et al. Thermal, microstructural, and spectroscopic analysis of Ca^{2+} alginate/clay nanocomposite hydrogel beads. **Journal of Molecular Liquids**. v. 265, p. 327-336, 2017.

FRISH, H. L.; STERN, D. A. **Critical Reviews in Solid State and Materials Science**. 2^a ed., v. 11, 123-187, 1983.

GALAEV, I.; MATTIASSON, B. **Smart Polymers: Applications in Biotechnology and Biomedicine**. 2^a ed. 2007, CRC Press 496, 2007.

GHOSHAL, K.; JACOB, S. T. An alternative molecular mechanism of action of 5-fluorouracil, a potent anticancer drug. **Biochem. Pharmacol.** v. 53, n. 11, p. 1569-1575, 1997.

GRANT, G. T. et al. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations - egg-box model. **FEBS Lett.** v. 32, p. 195–198, 1973.

GSCHWEND, F. J. V. et al. Rapid pre-treatment of mixtures using low cost ionic liquid triethylammonium hydrogen at elevated temperatures. **Green Chemistry**. v. 20, n. 15, p. 3486-3498, 2018.

GULREZ, S. K. H.; AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O. Hydrogels: Methods of Preparation, Characterization and Applications. Progress in Molecular and Environmental Bioengineering – From Analysis and Modeling to Technology Applications, IntechOpen, 2011.

HELMUS, M. N.; TWEDEN, K. **Encydopedic handbook of biomaterials and bioengineering: Materials selection**. Donald L. Wise, p. 27-59, 1995.

HU, Z.; MARGULIS, C. J. Heterogeneity in a Room-Temperature Ionic Liquid: Persistent Local Environments and the Red-Edge Effect. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** v. 103, p. 831–836, 2006.

HUANG, X.; BRAZEL, C.S. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**. v. 73, p. 121–136, 2001.

HUDDLESTON, J.G. et al. Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation. **Green Chem.** v. 3, p. 156-164, 2001.

JIN, L.; BAI, R. Mechanisms of Lead Adsorption on Chitosan/PVA Hydrogel Beads. **Langmuir**. v. 18, n. 25, p. 9765-9770, 2002.

JUAREZ, G. A. P. et al. Immunological and technical considerations in application of alginate-based microencapsulation systems. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**. v. 2, Article 26, 2014.

KAMATH, K.R.; PARK, K. Biodegradable hydrogels in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v.11, p. 59-84, 1993.

KAMOUN, E.A. et al. Poly (vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: Characterization and bio-evaluation. **Arab. J. Chem**. v. 8, p. 38-47, 2015.

KASHIN, A. S. et al. Direct Observation of Self-Organized Water-Containing Structures in the Liquid Phase and Their Influence on 5-(Hydroxymethyl) furfural Formation in Ionic Liquids. **Angew. Chem., Int. Ed**. v. 55, p. 2161–2166, 2016.

KHAZAELI, P.; PARDAKHTY, A.; HASSANZADEH, F. Formulation of ibuprofen beads by ionotropic gelation. **Iran. J. Pharm. Res**. v. 7, p. 163-170, 2008.

KIEFER, J.; FRIES, J.; LEIPERTZ, A., Experimental Vibrational Study of Imidazolium-Based Ionic Liquids: Raman and Infrared Spectra of 1-Ethyl-3-methylimidazolium Bis(trifluoromethylsulfonyl)imide and 1-Ethyl-3-methylimidazolium Ethylsulfate. **Applied spectroscopy**. v. 61, p. 1306-1311, 2007.

KIERYSA, A. et al. Encapsulation of diclofenac sodium within polymer beads by silicaspecies via vapour-phase synthesis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 142, p. 30–37, 2016.

KIM, M.H. et al. Entrapment of enzymes into cellulose–biopolymer composite hydrogel beads using biocompatible ionic liquid. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**. v. 75, p. 68–72, 2012.

KORSMEYER, R.W. et al. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **Int. J. Pharm**. v. 15, p. 25-35, 1983.

KUMBAR, S. G.; AMINABHAVI, T. M.; Preparation and characterization of interpenetrating network beads of poly(vinyl alcohol)-grafted-poly(acrylamide) with sodium alginate and their controlled release characteristics for cypermethrin pesticide. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 84, p. 552-560, 2002.

KUNDAKCI, S.; UZUM, O. B.; KARADAG, E.; Swelling and dye studies of acrylamide/2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid bentonite highly swollen composite hydrogels. **React. Funct. Polym**. v. 68, p. 458-473, 2008.

LAMBERT, J. B. **Introduction to organic spectroscopy**. New York: Macmillan, 1987.

LAROSA, C. et al. Characterisation of bare and tannase-loaded calcium alginate beads by microscopic, thermogravimetric, FTIR and XRD analyses. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 115, p. 900–906, 2018.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Hydrogels for tissue engineering. **Chem Rev.** v. 101, p. 1869-1879, 2001.

LEE, K. Y. et al. Hydrogel formation via cell cross-linking. **Adv Mater.** v. 15, p. 1828-1832, 2003.

LEE, K. Y.; BOUHADIR, K. H.; MOONEY, D. J. Degradação controlada de hidrogéis usando moléculas de reticulação multifuncionais. **Biomateriais**, v. 25, n. 13, p. 2461-2466, 2004.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginato: propriedades e aplicações biomédicas. **Prog Polym Sci.** v. 37, n. 1, p. 106-126, 2012.

LEE, S. H. et al. Extração seletiva de lignina mediada por líquidos iônicos da madeira, levando à hidrólise enzimática de celulose aumentada. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 102, n. 5, p. 1368-1376, 2009.

LEE, S. H. et al. **Ionic Liquid Applications: Pharmaceuticals, Therapeutics, and Biotechnology**. Oxford University Press: S.V. Malhotra. p. 115-134, 2010.

LESTARD, M. E. D. et al. Interaction of S-methyl methanethiosulfonate with DPPC bilayer, **Spectrochim. Acta: Part A**. v. 97, p. 479–489, 2012.

LIN, P. et al. Nanosized amine-rich spheres embedded polymeric beads for Cr (VI) removal. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 508, p. 369–377, 2017.

LIO, K.; MINOURA, N.; NAGURA, M. Swelling Characterists of a Blend Hydrogel Made of Poly(allylbguanido-co-allylamine) and Poly(vinyl alcohol). **Polymer**. v. 36, p. 2579-2583, 1995.

LOPES, C. M.; LOBO J. M. S.; COSTA P.; Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 41, n.2, p.143-154, 2005.

LU, T.; LI, G.; LI, J. Biomimetic sílica xerogel regulates indometacina release and oral bioavailability by virtue of chiral pores. **Microporous and Mesoporous Materials**. v. 294, p. 109834, 2020.

LYONS, J. G. et al. Development and characterisation of an agar–polyvinyl alcohol blend hydrogel. **Biomed. Mater.** v. 2, p. 485-493, 2009.

MA, Q.; WANG, Q. Lanthanide induced formation of novel luminescent alginate hydrogels and detection features. **Carbohydrate Polymers**. v. 133, p. 19–23, 2015.

MACHADO, C. et al. **Development of tailored hydrogels using RAFT polymerization in continuous flow microreactor**. In 8th ECNP International Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites. Dresden, Germany, 2014.

MAITI, S. et al. Adipic acid dihydrazide treated partially oxidized alginate beads for sustained oral delivery of flurbiprofen. **Pharm Develop Technol.** v. 14, p. 461–470, 2009.

MORTON, M. **Rubber Technology**. 2^a ed. Van Nostrand Reinhold, New York, 1989.

NIVETHAA, E. A. K. et al. An in-vitro cytotoxicity study of 5-Fluorouracil encapsulated chitosan/gold nanocomposite towards MCF-7 cells. **RSC Advances**. v. 5, p. 1024-1032, 2014.7

OLIVEIRA, T. et al. **Development of stimuli-responsive smart hydrogels using molecular imprinting and interpenetrating polymer networks**. Chempor 2014, FEUP Edições, Porto, Portugal, 2014.

OLUKMAN, M.; SANH, O.; SOLAK, E. K. Release of anticâncer drug 5-fluorouracil from diferente ionically crosslinked alginate beads. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**. v. 3, p. 469-479, 2012.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais- Fundamentos e Aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006.

OSTGAARD, K. et al. Production and characterization of guluronate lyase from *Klebsiella pneumoniae* for applications in sea weed biotechnology. **Enzyme Microb. Technol.** v. 15, p. 756–763, 1993.

PARK, CH; LEE, J. One-step immobilization of protein-encapsulated core/shell particles onto nanofiber. **Macromolecular Materials and Engineering**. v. 295, n. 6, p. 544-550, 2010.

PAVIA, D.L. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 4^a ed. Cengage Learning, 2010.
PAWAR, S.N.; EDGAR, K.J. Alginate derivatization: a review of chemistry, properties and applications. **Biomaterials**. V. 33, p. 3279-3305, 2012.

PAWLUKÓJĆ, A. et al. L-Cysteine: Neutron spectroscopy, Raman, IR and ab initio study. **Spectrochim. Acta: Part A**. v. 61, p. 2474–2481, 2005.

PEPPAS, N. A. et al. Modelling of drug diffusion through swelible polymeric systems. **J. Membr. Scr.** v. 7, 1980.

PEPPAS, N.A. et al. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** v. 50, p. 27-46, 2000.

PEPPAS, N.A.; KHARE, A.R. Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release. **Adv. Drug Deliv. Rev.** v. 11, p. 1-35, 1993.

PERNAK, J.; SOBASZKIEWICZ, K.; MIRSKA, I. Anti-microbial activities of ionic liquids. **Green Chem.** v. 5, p. 52–56, 2003.

QIU, Z.; TEXTER, J. Ionic liquids in microemulsions. **Curr. Opin. Colloid Interface Sci.** v. 13, p. 252–262, 2008.

RAMA, A. C. R. et al. Aspectos biofarmacêuticos da formulação de medicamentos para neonatos: fundamentos da complexação de indometacina com hidroxipropil-beta-ciclodextrina para tratamento oral do fechamento do canal arterial. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** v.41, n. 3, p. 281-299, 2005.

RAMOS, T. J. S. **Líquidos iônicos carboxilatos: sínteses, caracterização e sinecismo com íons lantanídeos.** Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

REYNOLDS, J. E. F. **Martindale The Extra Pharmacopoeia**, 31^a ed. London: Royal Pharmaceutical Society, p. 572-575, 1996.

RIBEIRO, L.N.M. et al. Bionanocomposites containing magnetic graphite as potential systems for drug delivery. **INT. J. PHARM.** v. 477, p. 553-563, 2014.

ROWLEY, J. A.; MADLAMBAYAN G.; MOONEY D.J. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. **Biomaterials.** v. 20, p. 45-53, 1999.

SANDEEP, K.; SL, C. H. Hydrogels: A smart drug delivery system. **Int. J. Res. Pharm. Chem.** v. 2, p. 603-614, 2012.

SANDINENI, P.; YAGHOOBNEJAD-ASL; H. CHOUDHURY, A. Kagomé lattices as a cathode: effect of particle size and fluoride substitution on the electrochemical insertion of lithium in sodium and ammonium jarosites. **Journal of Solid State Chemistry.** v. 242, p. 78-86, 2016.

SEELI, D. S. et al. Guar gum succinate-sodium alginate beads as a pH-sensitive carrier for colon-specific drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules.** v. 91, p. 45–50, 2016.

SEIDL, J. et al. Fortschritte der Hochpolymeren-Forschung. **Adv. Polym. Sci.** v. 5, p. 113, 1967.

SETTERSTORM, J. A. et al. Development of encapsulated antibiotics for topical administration to wounds. Second World Congress on Biomaterials 10th Annual Meeting of the Society for Biomaterials, Washington. p. 4, 1984.

SHANURA, I. P. F. et al. Alginate-based nanomaterials: fabrication techniques, properties, and applications. **Chemical Engineering Journal.** 2019.

SHEHZAD, H. et al. Amino-carbamate moiety grafted calcium alginate hydrogel beads for effective biosorption of Ag(I) from aqueous solution: Economically-competitive recovery. **International Journal of Biological Macromolecules.** v. 144, p. 362-372, 2018.

SHMUKLER, L.E. et al. Triethylammonium-based protic ionic liquids with sulfonic acids: Phase behavior and electrochemistry. **Journal of Molecular Liquids**. v. 266, p. 139-146, 2018.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N.A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 48, p.139-157, 2001.

SMIDSRØD, O.; SKJAK-BRÆK, G. Alginate as immobilization matrix for cells. **Trend Biotechnol.** v. 8, p. 71–78, 1990.

SMITH, E.; DENT, G. **Modern Raman Spectroscopy– A Practical**. England: Approach, John Wiley & Sons Ltd, 2005.

SOUZA, K. V.; PERALTA-ZAMORA, P.; ZAWADZKI, S. F. Imobilização de ferro (II) em matriz de alginato e sua utilização na degradação de corantes têxteis por processos Fenton. **Química Nova**. v. 31, n. 5, p. 1145–1149, 2008.

STEVENS, M.P. **Polymer chemistry: an introduction**. 3^a ed. Oxford University Press, New York, p. 3-34, 1999.

SUJJA-AREEVATH, J. et al. Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations. **Eur. J. Pharm. Sci.** v. 6, p. 207-217, 1998.

SUPRAMANIAM, J. et al. Magnetic nanocellulose alginate hydrogel beads as potential drug delivery system. **Int. J. Biol. Macromol.** v. 118, p. 640-648, 2017.

SURYAKUSUMA, H; JUN, H. W. Encapsulated hydrophilic polymer beads containing indomethacin as controlled release drug delivery systems. **J. Pharm. Pharmacol.** v. 36, p. 497-501, 1984.

TAHTAT, D. et al. (2017). Development of alginate gel beads with a potential use in the treatment against acute lead poisoning. **Internacional Journal of Biological Macromolecules**. v. 105, p. 1010-1016, 2017.

TAKAHASHI, S. H. **Desenvolvimento de hidrogéis inteligentes como meio de liberação controlada de fármaco**. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

TSINMAN, K. et al. Powder Dissolution Method for estimating rotating Disk Intrinsic Dissolution Rates of Low Solubility Drugs. **Pharm. Res.** v. 26, p. 2093-2100, 2009.

WANG, G.; WANG Z.; HUANG L. Feasibility of chitosan-alginate (Chi-Alg) hydrogel used as scaffold for neural tissue engineering: a pilot study in vitro. **Biotechnol. Biotechnol. Equip.** v. 31, p. 766-773, 2017.

WANG, J. et al. Collagen/cellulose hydrogel beads reconstituted from ionic liquid solution for Cu(II) adsorption. **Carbohydrate Polymers**. v. 98, p. 736–743, 2013.

WASSERSCHIED, P.; WELTON, T. **Ionic Liquids in Synthesis**; Wiley-VHC: Weinheim, 2002.

WASSERSCHIED, P.; KEIM, W. Líquidos iônicos - Novas “soluções” para catálise de metais de transição. **Angewandte Chemie**, v. 39, n. 21, p. 3772-3789, 2000.

WIDDER, K. J.; SENYEI, A. E.; RANNEY, D. F. In Vitro Release of Biologically Active Adriamycin by Magnetically Responsive Albumin Microspheres. **Cancer Research**. v. 40, p. 3512-3517, 1980.

YASMIN, F.; CHEN, X.; EAMES, B. F. Effect of Process Parameters on the Initial Burst Release of Protein-Loaded Alginate Nanospheres. **J. Funct. Biomater**. v. 10, n. 3, ep. 42, 2019.

YIN, Z.; WANG, Y.; WANG, K. A pH-responsive composite hydrogel beads based on agar and alginate for oral drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**. v. 43, p. 12 e 18, 2018.

ZHAO, X. H. et al. Stress-relaxation behavior in gels with ionic and covalent crosslinks. **J Appl Phys**. v. 107, p. 063509, 2010.

ZHOU, M. et al. Alginate hydrogel beads as a carrier of low density lipoprotein/pectin nanogels for potential oral delivery applications. **Int. J. Biol. Macromol**. v. 120, p. 859-864, 2018.