UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

JÉSSICA DE MATOS FONSECA

Preparação de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de
poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de
etilenoglicol) via secagem por pulverização para liberação controlada de
cetoprofeno

Lorena

2016

JÉSSICA DE MATOS FONSECA

Preparação de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol) via secagem por pulverização para liberação controlada de cetoprofeno

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química na área de novos materiais e química fina.

Orientador: Dr. Amilton Martins dos Santos

Edição reimpressa e corrigida

Lorena
Novembro, 2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Fonseca, Jéssica de Matos

Preparação de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(N-vinilcaprolactama co-ácido itacônico-co-dimetacrilato de etilenoglicol) via secagem por pulverização para liberação controlada de cetoprofeno / Jéssica de Matos Fonseca; orientador Amilton Martins dos Santos - ed. reimp., corr. - Lorena, 2016.
188 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Engenharia Química na Área de Novos Materiais e Química Fina) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2016
Orientador: Amilton Martins dos Santos

1. Nanogéis. 2. Poli(n-vinilcaprolactama-co-ácido itacônico-co-dimetacrilato de etilenoglicol). 3. Quitosana. 4. Secagem por pulverização. 5. Cetoprofeno. I. Título. II. Santos, Amilton Martins dos, orient.

*Dedico esta dissertação aos meus pais Ângela
e Carlos, que sempre lutaram com muito
esforço para me proporcionarem o melhor.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder força, paciência e serenidade nos momentos em que mais precisei.

Ao Prof. Amilton Martins dos Santos pela oportunidade de realizar este trabalho em seu laboratório de pesquisa.

Aos meus pais Ângela e Carlos, pelo apoio compreensão e preocupação.

À Gizelda Alves e à Simone Medeiros por toda ajuda e coorientação.

Aos meus colegas e amigos de trabalho do Laboratório de Polímeros da EEL-USP, especialmente, Rodrigo, Isabela, Clarice e Bruno, pela amizade, paciência e pela generosidade ao compartilharem conhecimentos que me ajudaram na execução deste trabalho.

Ao Prof. Sérgio Campana-Filho e ao seu aluno de doutorado Danilo Martins por toda colaboração e atenção com relação à parte experimental da quitosana.

Ao Jorge Rosa pelas análises de microscopia eletrônica de varredura e metalização de amostras.

Ao Mateus Botani pelo treinamento para operação do microscópio eletrônico de varredura.

À Thaíssa Chaparro pelas micrografias de microscopia eletrônica de transmissão.

Ao Prof. Paulo Suzuki pelas análises e treinamento no difratômetro de raios-X.

À Bárbara Ferreira pelas análises de espectroscopia de infravermelho.

Aos meus amigos de Lorena, Amanda, Soraia, Beatriz, Renata, Larissa, Thiago, Annie e Julyana pela amizade e apoio quando eu mais precisei.

*“O homem não teria alcançado o possível se,
repetidas vezes, não tivesse tentado o impossível.”*

Max Weber

*“Uma experiência nunca é um fracasso, pois sempre
vem demonstrar algo.”*

Thomas Edison

RESUMO

FONSECA, J. M. **Preparação de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol) via secagem por pulverização para liberação controlada de cetoprofeno.** 2016. 188 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo, 2016.

Neste trabalho foram desenvolvidas micropartículas híbridas em pó constituídas de uma matriz biodegradável de quitosana incorporada de partículas de nanogéis biocompatíveis sensíveis à temperatura e/ou ao pH para controlar a liberação de cetoprofeno e aumentar sua solubilidade. Cetoprofeno foi encapsulado em nanopartículas de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol) (poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno), sintetizadas via polimerização por precipitação, as quais foram incorporadas em matriz de quitosana (95% desacetilada e $\bar{M}_v = 85 \text{ kDa}$) com os objetivos de melhorar a adesão das micropartículas híbridas no local de liberação e de auxiliar no controle de liberação do fármaco. As micropartículas híbridas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno foram preparadas por interação eletrostática entre os polímeros dispersos em meio aquoso, seguida de secagem por pulverização (*spray drying*) a fim de melhorar a estabilidade das micropartículas. Inicialmente foi realizado um estudo sobre a influência das concentrações de monômeros e de iniciador no diâmetro hidrodinâmico (D_h) e na sensibilidade à temperatura e ao pH das partículas de nanogéis. Duas formulações de nanogéis contendo partículas com diferentes valores de D_h ($R_{51} = 185,9 \text{ nm}$ e $R_{50} = 120,6 \text{ nm}$) foram utilizadas para a encapsulação de cetoprofeno. As morfologias das partículas de nanogel e das micropartículas híbridas foram avaliadas por microscopias eletrônicas de transmissão e de varredura, respectivamente. Calorimetria diferencial de varredura (DSC), difração de raios X (DRX) e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram utilizadas para analisar as propriedades térmicas, confirmar a encapsulação de cetoprofeno e avaliar qualitativamente a composição dos materiais e interações entre as matrizes poliméricas, respectivamente. Os resultados mostraram que o cetoprofeno foi amorfizado e encapsulado pela matriz de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), com uma eficiência de encapsulação de 39,6% e 57,8% para as partículas R_{50} e R_{51} , respectivamente. As matrizes poliméricas de quitosana e de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) interagiram durante a sua mistura física e durante o processo de secagem, e a cristalinidade da quitosana diminuiu com a incorporação de partículas de nanogel em sua matriz. Os testes de liberação de cetoprofeno

in vitro mostraram que as partículas de nanogéis conseguiram controlar a liberação de cetoprofeno e que liberaram 100% do fármaco encapsulado durante 52h de teste, na condição de pH 7,4 e a 37°C. Os testes também evidenciaram que o tamanho das partículas de nanogel foi o parâmetro que mais interferiu na difusão do cetoprofeno pelas partículas, e que a liberação de cetoprofeno foi mais acelerada para as partículas menores (reação R50). Nas mesmas condições de teste, a incorporação das partículas de nanogel na matriz de quitosana causou um retardo na liberação do cetoprofeno, devido à insolubilidade da quitosana no pH 7,4. E os resultados mostraram que para as micropartículas híbridas com maior concentração de partículas de nanogel com relação à massa de quitosana, a liberação de cetoprofeno foi menos acentuada. Isso ocorreu devido ao maior número de interações entre as matrizes poliméricas, o que limitou o contato das partículas de nanogel com o meio de liberação e diminuiu o grau de liberdade de suas cadeias poliméricas.

Palavras-chave: Nanogéis. Poli(*N*-vinicaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol). Quitosana. Secagem por pulverização. Cetoprofeno.

ABSTRACT

FONSECA, J. M. **Preparation of poly(*N*-vinylcaprolactam-*co*-itaconic acid-*co*-ethylene glycol dimethacrylate)-based nanogels embedded in chitosan matrix for controlled release of ketoprofen by spray-drying technique.** 2016. 188 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo, 2016.

In this work, powdered hybrid microparticles composed by a chitosan biodegradable matrix embedded with biocompatible and thermo- and pH-responsive particles-based nanogels were developed and used to control the ketoprofen release and to increase its solubility. Ketoprofen was loaded in poly(*N*-vinylcaprolactam-*co*-itaconic acid-*co*-ethylene glycol dimethacrylate)-based nanogels (poly(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-ketoprofen) synthesized by precipitation polymerization, which were embedded in chitosan matrix (95% deacetylation and $\bar{M}_v = 85kDa$) aiming to improve the mucoadhesive properties of hybrid microparticles on the targeted tissue and to support in the control of drug release. Hybrid microparticles of chitosan/poly(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-ketoprofen were prepared by electrostatic interactions between polymers dispersed in aqueous media and spray-dried in order to improve the microparticles stability. First, it was carried out a study about the influence of monomers and initiator concentrations in the size (hydrodynamic diameter) and thermo- and pH-responsiveness properties of particles-based nanogels. Two formulations of nanogels with different particle sizes ($R_{51} = 185.9$ nm e $R_{50} = 120.6$ nm) were used to encapsulate ketoprofen. The morphology of particles-based nanogels and hybrid microparticles was studied by transmission and scanning electron microscopies, respectively. Differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) were used to study thermal properties, to confirm encapsulation of ketoprofen and qualitatively evaluate the composition of materials and interactions between polymeric matrices, respectively. The results showed that ketoprofen was converted from the crystalline to the amorphous state and was encapsulated by poly(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) matrix, with an encapsulation efficiency of 39.6% and 57.8%, for particles R_{50} and R_{51} , respectively. Polymeric matrices of chitosan and poly(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) interacted during their mixture and drying process, and chitosan crystallinity decreased as a result of the incorporation of particles-based nanogels in their matrix. In vitro release tests of ketoprofen showed that poly(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-based nanogels controlled the delivery of ketoprofen and 100% of ketoprofen-loaded has been released after 52h of the tests, carried out in pH 7.4 at

37°C. These tests also showed that the particles-based nanogels size was the parameter that most interfered in the ketoprofen diffusion by particles and that the ketoprofen release from smaller particles (R50 reaction) was faster. Under the same conditions, the incorporation of poly(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-based nanogels in chitosan matrix slowed the ketoprofen release, due to insolubility of chitosan in the media at pH 7.4. The results showed that hybrid microparticles with a higher concentration of particles-based nanogels, with respect to the mass of chitosan, the release of ketoprofen was less pronounced. It was due to the greater number of interactions between the polymer matrices, which limited the contact of particles-based nanogels with the media of release and reduced the degree of freedom of the polymeric chains.

Keywords: Nanogels. Poly(*N*-vinylcaprolactam-*co*-itaconic acid-*co*-ethylene glycol dimethacrylate). Chitosan. Spray-drying. Ketoprofen

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1- Concentração de um princípio ativo ao longo do tempo após sua administração: (a) dose oral (b) overdose oral (c) intravenosa (d) liberação controlada do tipo prolongada.....	36
Figura 2.2- Classificação dos sistemas de liberação controlada quanto ao mecanismo de liberação.....	37
Figura 2.3- Ilustração do efeito de transição de fases da poli(<i>N</i> -isopropilacrilamida) (PNIPAAm).....	40
Figura 2.4- Estrutura química do polímero poli(<i>N</i> -vinilcaprolactama) (PNVCL).....	41
Figura 2.5- Esquema representativo da sensibilidade à temperatura da poli(<i>N</i> -vinilcaprolactama).....	42
Figura 2.6- Representação esquemática da sensibilidade ao pH de polímeros polieletrólitos.....	43
Figura 2.7- Estrutura química dos ácidos acrílico e itacônico.....	44
Figura 2.8- Estrutura química da quitina (a) e quitosana (b).....	47
Figura 2.9- Representação esquemática da sensibilidade a múltiplos estímulos (pH e temperatura) de copolímeros inteligentes.....	49
Figura 2.10- Representação esquemática de sistemas micro e nanoparticulados aplicados em liberação controlada de fármacos.....	53
Figura 2.11- Classificação de hidrogéis baseada em diferentes propriedades.....	54
Figura 2.12- Representação esquemática da sensibilidade à temperatura e ao pH de partículas de hidrogel.....	56
Figura 2.13- Esquema representativo de formação de partículas via polimerização por precipitação. (a) e (b) Etapas de nucleação de partículas, (c) Etapa de crescimento das partículas.....	59

Figura 2.14- Preparação via eletrofiação de microfibras de PCL incorporadas de partículas de poli(NVCL- <i>co</i> -AI) contendo ZnO encapsulado.....	61
Figura 2.15- Estruturas propostas para filmes de quitosana incorporada de nanopartículas de Eudragit RS 100® em função do aumento da concentração de nanopartículas, (a) quitosana, (b) quitosana/NPs (10:3), (c) quitosana/NPs (2:1) e (d) quitosana/NPs (1:1)....	62
Figura 2.16- Representação da sensibilidade à temperatura e ao pH de hidrogéis de carboximetilquitosana contendo PAA, PNIPAAm e copolímeros de poli(NIPAAm- <i>co</i> -AA).....	64
Figura 2.17- Representação esquemática de microfibras constituídas por diferentes matrizes poliméricas de quitosana/poli(NIPAAm- <i>co</i> -NMA) e de quitosana-PNIPAAm/poli(NIPAAm- <i>co</i> -NMA), obtidas via eletrofiação para liberação controlada de fármacos.....	67
Figura 2.18- Estrutura química do cetoprofeno.....	68
Figura 2.19- Representação esquemática do <i>Nano Spray Dryer B-90</i> da Büchi® (a) e do seu sistema de atomização ultrassônico (b).....	73
Figura 2.20- Mecanismo geral de formação de micro e nanopartículas monolíticas e ocas preparadas via secagem por pulverização.....	77
Figura 3.1- Estruturas químicas dos monômeros NVCL, AI, EGDMA e da quitosana utilizados nas sínteses dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) e no preparo das micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis.....	81
Figura 3.2- Fluxograma com as etapas da metodologia utilizada para a preparação de micropartículas híbridas em pó de quitosana incorporada de partículas de (poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)) contendo cetoprofeno encapsulado.....	82
Figura 3.3- Rota sintética empregada na síntese dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA).....	84
Figura 3.4- Câmara de atomização e pulverização, bico atomizador e painel de controle do <i>Nano Spray Dryer B-90</i> da Büchi®.....	86

Figura 3.5- Representação esquemática do processo de gelificação iônica de quitosana com nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) em pH 4,5.....	88
Figura 3.6- Curva de calibração do cetoprofeno em água obtida por espectrofotometria de radiação UV visível.....	93
Figura 3.7- Curva de calibração do cetoprofeno em solução tampão de pH 1,2 obtida por espectrofotometria de radiação UV visível.....	96
Figura 3.8- Curva de calibração do cetoprofeno em solução tampão de pH 7,4 obtida por espectrofotometria de radiação UV visível.....	97
Figura 4.1- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) (a) e potencial zeta (b) em função do pH para partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA), sintetizados com diferentes concentrações de AI (3, 6 e 9%, m/m, de AI com relação à massa de NVCL).....	101
Figura 4.2- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) em função da temperatura e em pH 7,4 para partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de AI (3, 6 e 9%, m/m, de AI com relação à massa de NVCL).....	103
Figura 4.3- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) de partículas (a) e potencial zeta (b) em função do pH, para partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de EGDMA (2, 3 e 6%, m/m, de EGDMA com relação à massa de NVCL).....	106
Figura 4.4- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) em função da temperatura e em pH 7,4 para as partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizados com diferentes concentrações de EGDMA (2, 3 e 6%, m/m, de EGDMA com relação à massa de NVCL).....	107

Figura 4.5- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) (a) e potencial zeta (b) em função do pH, para partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de KPS (1, 1,5 e 2%, m/m, de KPS com relação à massa de NVCL).....	108
Figura 4.6- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) em função da temperatura e em pH 7,4 para partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de KPS (1, 1,5 e 2%, m/m, de KPS com relação à massa de NVCL).....	110
Figura 4.7- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) (a) e potencial zeta (b) em função do pH, para partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com 4,5% de AI , 2% de EGDMA e 1% de KPS, m/m, com relação à massa de NVCL.....	112
Figura 4.8- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) em função da temperatura e em pH 7,4 para partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS, m/m, com relação à massa de NVCL.....	113
Figura 4.9- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) de partículas ((a1) e (b1)) e potencial zeta ((a2) e (b2)) em função do pH para partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (R50 e R51).....	115
Figura 4.10- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) em função da temperatura para as partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (R50 e R51).....	116
Figura 4.11- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV), de cristais de cetoprofeno e de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado.....	118
Figura 4.12- Difratogramas de raios X do cetoprofeno puro, dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) (reações R1 e R8) puros e contendo cetoprofeno encapsulado (reações R50 e R51).....	120

Figura 4.13- Termogramas de DSC do cetoprofeno puro, dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) (reações R1 e R8) e de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (reações R50 e R51).....	121
Figura 4.14- Espectros de FTIR de cetoprofeno puro e de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sem cetoprofeno e contendo cetoprofeno encapsulado.....	127
Figura 4.15-: Micrografias de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sem cetoprofeno (amostra R1) e contendo cetoprofeno encapsulado (amostra R51).....	129
Figura 4.16- Micrografias de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sem cetoprofeno (amostra R8) e contendo cetoprofeno encapsulado (amostra R50).....	130
Figura 4.17- Liberação de cetoprofeno a 37°C e pH 1,2 a partir de partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) obtidas nas reações R50 e R51.....	131
Figura 4.18- Liberação de cetoprofeno a 25°C e pH 1,2 a partir de partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) obtidas nas reações R50 e R51.....	132
Figura 4.19- Liberação <i>in vitro</i> de cetoprofeno a 37°C e pH 7,4 a partir das partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) obtidas nas reações R50 e R51.....	134
Figura 4.20- Liberação de cetoprofeno a 25°C e pH 7,4 a partir dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) obtidas nas reações R50 e R51.....	135
Figura 4.21- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas de quitosana pura (Q95) obtidas via secagem por pulverização.....	141
Figura 4.22- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno (Q95 ^a R51 ^b -40% ^c) obtidas via secagem por pulverização.....	142
Figura 4.23- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno (Q95 ^a R51 ^b -70% ^c) obtidas via secagem por pulverização.....	143

Figura 4.24- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno (Q95 ^a R50 ^b -40% ^c) obtidas via secagem por pulverização.....	144
Figura 4.25- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno (Q95 ^a R50 ^b -70% ^c) obtidas via secagem por pulverização.....	145
Figura 4.26- Potencial zeta em pH 1,2, 4,5 e 7,4 das micropartículas de quitosana pura e das micropartículas de quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno obtidas via secagem por pulverização.....	151
Figura 4.27- Difratoformas de raios X do cetoprofeno puro, dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno, das micropartículas de quitosana pura e das micropartículas de quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno	154
Figura 4.28- Termogramas de DSC das micropartículas de quitosana e das micropartículas de quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno.....	155
Figura 4.29- Espectros de FTIR dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (amostra R50), das micropartículas de quitosana (Q95) e das micropartículas de quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno (amostras Q95 ^a R50 ^b -40% ^c e Q95 ^a R50 ^b -70% ^c).....	163
Figura 4.30- Espectros de FTIR dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (amostra R50), das micropartículas de quitosana (Q95) das micropartículas de quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno (amostras Q95 ^a R51 ^b -40% ^c e Q95 ^a R51 ^b -70% ^c).....	164
Figura 4.31- Liberação <i>in vitro</i> de cetoprofeno em pH 7,4 a 37°C a partir das micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) (amostras Q95 ^a R51 ^b -40% ^c e Q95 ^a R51 ^b -70% ^c).....	165
Figura 4.32- Liberação <i>in vitro</i> de cetoprofeno em pH 7,4 a 37°C a partir de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) (Q95 ^a R50 ^b -40% ^c e Q95 ^a R50 ^b -70% ^c).....	166

Figura 4.33- Representação esquemática de liberação cetoprofeno em pH 7,4.....171

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1- Exemplos de polímeros termossensíveis, com seus respectivos valores de LCST.....	39
Tabela 2.2- Polímeros e copolímeros polieletrólíticos estudados para aplicações biomédicas.....	43
Tabela 2.3- Condições utilizadas nos testes de liberação de indometacina a partir de matriz de caboximetilquitosana incorporada de copolímeros e homopolímeros sensíveis à temperatura e ao pH após um período de 12 horas.....	64
Tabela 2.4- Formulações utilizadas para o preparo de micropartículas e nanopartículas de quitosana reticuladas com tripolifosfato (TPP).....	75
Tabela 2.5- Diâmetro de partículas, rendimento de recuperação de partículas, eficiência de encapsulação e porcentagem de liberação de vancomicina encasulada em matrizes de quitosana reticuladas com tripolifosfato, preparadas via secagem por pulverização e liofilização.....	75
Tabela 2.6- Principais morfologias obtidas para partículas preparadas via secagem por pulverização e suas principais características.....	79
Tabela 3.1- Formulações utilizadas nas sínteses dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sem cetoprofeno e contendo cetoprofeno via polimerização por precipitação..	85
Tabela 3.2- Parâmetros utilizados na pulverização da solução de quitosana para a obtenção de micropartículas de quitosana pura de micropartículas híbridas de quitosana incorporada de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado.....	86
Tabela 3.3- Razões em massa de quitosana e de nanogéis utilizadas na preparação de partículas híbridas de quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno via secagem por pulverização.....	88
Tabela 3.4- Condições experimentais para a avaliação da cinética de liberação <i>in vitro</i> de cetoprofeno.....	95

Tabela 4.1- Diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de AI (3, 6 e 9%, m/m, com relação à massa de NVCL).....	100
Tabela 4.2- Diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de EGDMA (2, 3 e 6%, m/m, com relação à massa de NVCL).....	105
Tabela 4.3- Diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de KPS (1, 1,5 e 2%, m/m, com relação à massa de NVCL).....	108
Tabela 4.4- Diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS, m/m, com relação à massa de NVCL.....	111
Tabela 4.5- Formulação e diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado.....	114
Tabela 4.6- Eficiência de encapsulação (EE) do cetoprofeno nas partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) sintetizadas com 1,25%, de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL.....	117
Tabela 4.7- Comparação entre o diâmetros médio de partículas obtidos por análise de micrografias de MET (D_p) e diâmetros hidrodinâmico (D_h) obtidos por espalhamento de luz, para partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) puros e contendo cetoprofeno encapsulado.....	130
Tabela 4.8- Diâmetro médio de micropartículas de quitosana e de quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno preparadas via secagem por pulverização	132
Tabela 4.9- Eficiência de recuperação (ER) de micropartículas de quitosana e das micropartículas híbridas, quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno preparadas via secagem por pulverização.....	149

Tabela 4.10- Temperatura de transição vítrea (T_g) de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado, de micropartículas de quitosana pura e de quitosana/poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)-cetoprofeno	158
Tabela 4.11- Percentual de cetoprofeno liberado no pH 7,4 e à temperatura de 37°C pelas partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) incorporadas em matriz de quitosana.....	169
Tabela A.1- Principais diferenças entre o <i>Nano Spray Dryer B-90</i> e o <i>Mini Spray Dryer B-290</i> , desenvolvidos pela Büchi®	187
Tabela B.1- Estabilidade coloidal dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA), sintetizados com diferentes concentrações de AI, EGDMA e KPS após 1 ano de armazenamento	188

LISTA DE ABREVIACÕES

AA – ácido acrílico

AI- ácido itacônico

DRX – Difração de raios X

DSC - calorimetria exploratória diferencial

EGDMA - dimetacrilato de etilenoglicol

FTIR - Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

GD – grau de desacetilação

KPS – persulfato de potássio

LCST – temperatura crítica inferior de solubilização

MET – microscopia eletrônica de transmissão

MEV – microscopia eletrônica de varredura

$\bar{M}_v$ - massa molar viscosimétrica

$\bar{M}_w$ - massa molar média

NVCL - *N*-vinilcaprolactama

PNIPAam - poli(*N*-isopropilacrilamida)

PNVCL – poli(*N*-vinilcaprolactama)

Poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) - poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol)

Q95^aR50^b-40%^c - micropartículas de quitosana/nanogéis R50 (5:2)

Q95^aR50^b-70%^c - micropartículas de quitosana/nanogéis R50 (10:7)

Q95^aR51^b-40%^c - micropartículas de quitosana/nanogéis R51 (5:2)

Q95^aR51^b-70%^c - micropartículas de quitosana/nanogéis R51 (10:7)

T_g – temperatura de transição vítrea

T_m – temperatura de fusão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	31
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	35
2.1	Sistema de liberação controlada de fármacos	35
2.2	Polímeros biocompatíveis e biodegradáveis	37
2.3	Polímeros sensíveis à temperatura	38
2.4	Polímeros sensíveis ao pH	42
2.4.1	Ácido itacônico	44
2.4.2	Quitosana	46
2.5	Combinação de sensibilidade à temperatura e ao pH.....	49
2.6	Sistemas micro e nanoparticulados para a liberação controlada de fármacos	51
2.6.1	Microgéis e nanogéis	53
2.6.2	Síntese de microgéis e nanogéis sensíveis à temperatura e ao pH via polimerização por precipitação	57
2.6.3	Incorporação de microgéis e nanogéis em diferentes matrizes poliméricas ..	60
2.6.4	Encapsulação de cetoprofeno.....	67
2.7	Dispersões sólidas de medicamentos preparadas via secagem por pulverização para liberação de fármacos	69
2.7.1	Secagem por pulverização (<i>spray drying</i>)	69
2.7.2	Mecanismo de formação de partículas via secagem por pulverização	76
3	MATERIAIS E MÉTODOS	81
3.1	Reagentes	81
3.2	Métodos.....	82
3.2.1	Síntese de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) e encapsulação de cetoprofeno	83
3.2.2	Preparação de micropartículas de quitosana via secagem por pulverização ..	85
3.2.3	Preparação de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno via secagem por pulverização.....	87
3.3	Caracterização dos materiais.....	89
3.3.1	Diâmetro hidrodinâmico médio (D_h)	89
3.3.2	Sensibilidade ao pH e à temperatura.....	89
3.3.3	Potencial Zeta (ζ)	90
3.3.4	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	90

3.3.5	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	91
3.3.6	Difração de Raios X.....	91
3.3.7	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	92
3.3.8	Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	92
3.3.9	Determinação da eficiência de encapsulação de cetoprofeno nas partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)	93
3.3.10	Determinação da eficiência de recuperação das micropartículas secas por pulverização	94
3.3.11	Ensaio de liberação <i>in vitro</i> do cetoprofeno	95
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	98
4.1	Síntese de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) via polimerização por precipitação	98
4.1.1	Síntese de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) via polimerização por precipitação e estudo da sensibilidade à temperatura e ao pH.....	98
4.1.2	Influência da concentração do ácido itacônico (AI)	99
4.1.3	Influência da concentração do agente reticulante dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA)	104
4.1.4	Influência da concentração de iniciador persulfato de potássio (KPS).....	107
4.1.5	Influência da variação da concentração de ácido itacônico (AI) e de dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA)	110
4.2	Encapsulação de cetoprofeno em partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA).....	113
4.2.1	Caracterizações das partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado	114
4.2.1.1	Eficiência de encapsulação (EE)	116
4.2.1.2	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	118
4.2.1.3	Difração de raios X (DRX).....	119
4.2.1.4	Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	120
4.2.1.5	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	125
4.2.1.6	Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	128
4.2.2	Testes de liberação <i>in vitro</i> de cetoprofeno a partir de partículas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)	131
4.3	Preparação de micropartículas de quitosana pura e de quitosana incorporadas de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) via secagem por pulverização.....	138
4.3.1	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	138

4.3.2	Determinação da eficiência de recuperação das micropartículas secas por pulverização	149
4.3.3	Determinação da densidade de cargas na superfície (potencial zeta) de micropartículas obtidas via pulverização.....	150
4.3.4	Difração de raios X (DRX).....	152
4.3.5	Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	154
4.3.6	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	160
4.3.7	Testes de liberação <i>in vitro</i> de cetoprofeno a partir de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA)	165
5	CONCLUSÃO	172
	REFERÊNCIAS.....	174
	APÊNDICE A- Diferenças entre os pulverizadores de escala laboratorial, Mini Spray Dryer B-290 e o Nano Spray Dryer B-90, desenvolvidos pela Büchi®.....	187
	APÊNDICE B- Estabilidade coloidal dos nanogéis de poli(NVCL- <i>co</i> -AI- <i>co</i> -EGDMA) após 1 ano de armazenamento	188

1 INTRODUÇÃO

Os sistemas de liberação controlada de fármacos preparados a partir de polímeros biodegradáveis e/ou biocompatíveis tem sido amplamente estudados devido às inúmeras vantagens que podem oferecer ao paciente, como o aumento da biodisponibilidade e da solubilidade do fármaco, redução do número de administrações do medicamento, redução de efeitos colaterais e de possível toxicidade, proteção do fármaco contra degradação química e enzimática e atuação do princípio ativo em tecido alvo específico (VILAR et al., 2012). O cetoprofeno é um fármaco derivado do ácido propiônico, anti-inflamatório, não-esteroidal e de classe II segundo o sistema de classificação biofarmacêutica, ou seja, é um fármaco de baixa solubilidade e alta permeabilidade, que pode provocar irritação na mucosa gastrointestinal quando administrado em altas dosagens. Assim, a encapsulação de cetoprofeno em sistemas de liberação controlada poderia aumentar a sua biodisponibilidade e solubilidade a partir da sua interação com a matriz polimérica (CHAN et al. 2015).

Muitos desses polímeros empregados como matrizes encapsulantes ou dispersantes são “inteligentes”, ou seja, são capazes de responder a estímulos externos como luz, pH, temperatura, força iônica, campo magnético, entre outros, por meio de mudanças na sua estrutura física, principalmente, as quais controlam o perfil de liberação do fármaco. Esse perfil, portanto, dependerá do tipo e da sensibilidade do polímero, da aplicação biomédica, do tecido alvo, das dimensões do sistema de administração, das propriedades físico-químicas do fármaco e da sua interação com a matriz polimérica (FLEIGE et al., 2012).

Os polímeros sensíveis à temperatura e ao pH, ou aos dois estímulos simultaneamente são os mais utilizados para a preparação de sistemas de liberação controlada de fármacos, devido ao fato de tecidos do corpo humano, em um estado patológico, poderem apresentar alterações de pH e de temperatura, como no caso de tumores, infecções, inflamações, febre e hipotermia. Essas variações de pH e de temperatura podem estimular a liberação do fármaco a partir da matriz polimérica inteligente. Entre os polímeros termossensíveis mais estudados, a poli(*N*-vinilcaprolactama) (PNVCL) tem ganhado destaque nas pesquisas biomédicas por ser um polímero biocompatível, o qual apresenta uma temperatura de transição de fase próxima à temperatura fisiológica do corpo sadio (37°C). Ao atingir essa temperatura de transição,

também denominada Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST), ocorre alterações no balanço de interações hidrofílicas e hidrofóbicas no sistema polímero-solvente. As ligações hidrogênio que mantêm as macrocadeias de PNVCL solvatadas por moléculas de solvente são rompidas e as interações hidrofóbicas entre cadeias poliméricas são favorecidas, causando a precipitação das cadeias. O monômero *N*-vinilcaprolactama (NVCL) também pode ser copolimerizado com comonômeros hidrofílicos que contém grupos ionizáveis, como o ácido itacônico, resultando na formação de copolímeros sensíveis à temperatura e ao pH simultaneamente. Essas características tornam os monômeros NVCL e ácido itacônico promissores para a preparação de um dos tipos de sistema de liberação de fármacos mais empregados para aumentar a biodisponibilidade e solubilidade de fármacos, os hidrogéis (FLEIGE, et al., 2012; LIU et al., 2014).

Os hidrogéis foram os primeiros sistemas farmacêuticos para a liberação de fármacos a serem testados pela biomedicina e são compostos por cadeias poliméricas reticuladas, que conferem a esses dispositivos biomédicos uma morfologia tridimensional e insolubilidade em meio aquoso. Porém, os hidrogéis apresentam alta afinidade pela água devido à presença de grupos hidrofílicos (-NH₂, -COOH, -OH, -CONH₂, -CONH- e -SO₃H) em suas cadeias, conferindo a esses materiais a capacidade de absorção e expulsão de água, conforme mudanças ocorridas no equilíbrio de interações hidrofílico-hidrofóbicas do seu sistema. Esses sistemas de liberação, assim como outros (esferas, cápsulas, partículas magnéticas, emulsão, “quantum dots”, lipossomas, partículas lipídicas sólidas, micelas e ciclodextrina) podem ser sintetizados na escala micro e nanométrica a fim de aumentar a área superficial e a molhabilidade da superfície do sistema exposta ao meio de dissolução, e consequentemente, aumentar a biodisponibilidade, solubilidade e difusão de fármacos (HAGGAG et al., 2015; LEE et al., 2011; WILKE et al., 2015).

Os micro e nanogéis geralmente são sintetizados via polimerização por precipitação, um processo economicamente viável, o qual permite a obtenção de partículas com distribuição unimodal de tamanhos e a possibilidade de síntese de partículas livres de surfactantes. Nesse caso, a estabilização coloidal pode ser realizada por meio da adição de comonômeros que contenham grupos ionizáveis e que estejam parcialmente ionizados durante a síntese ((ZHANG et al., 2013; HAWKER 1997; DOWNEY et al., 1999; LIU et al., 2014). Contudo a estabilidade coloidal desses materiais pode ser comprometida por condições adversas impostas pelo próprio corpo humano antes que o sistema de liberação atinja o tecido alvo, especialmente no caso da administração oral. A variação do pH ao

longo do sistema gastrointestinal pode interferir na eficiência da liberação de fármacos a partir de micro e nanogéis sensíveis ao pH, causando sua aglomeração, e consequentemente, sua difícil redispersão no tecido alvo. Assim, esses microgéis e nanogéis podem ser incorporados por interações físicas ou enxertados em outras matrizes poliméricas biodegradáveis, como a quitosana, as quais podem exercer um papel de proteção contra a aglomeração de partículas. Além disso podem aumentar a adesão do sistema de liberação sobre a mucosa do tecido alvo (mucoadesão) ou até mesmo podem ser utilizadas para modificar as propriedades de outra matriz polimérica (formação de compósitos), como o pH ideal para liberação ou para melhorar o controle de liberação do fármaco (WILKE et al., 2015; CONTRI et al., 2014; JANKAEW et al., 2015; HUANG et al., 2014).

Além da hibridização de matrizes poliméricas para melhorar a estabilidade ou modificar as propriedades dos sistemas de liberação controlada de fármacos, outra estratégia bastante utilizada para melhorar a estabilidade desses sistemas é a preparação de dispersões sólidas. As dispersões líquidas podem apresentar: problemas de aglomerações, contaminação microbiana, liberação do fármaco durante o seu armazenamento e fármaco na forma de cristais, os quais são mais difíceis de solubilizar. Além de melhorar a estabilidade dos produtos farmacêuticos, prolongando o seu tempo de armazenamento, as dispersões sólidas também podem ser utilizadas como estratégia para aumentar a solubilidade e biodisponibilidade do fármaco, podendo ser associadas a outras estratégias como a redução de tamanho de partículas, formação de sais e de co-cristais, inclusão de complexos como ciclodextrana e amorfização, as quais também visam o aumento da biodisponibilidade e da solubilidade de fármacos (HAGGAG et al, 2015; CELLI et al., 2015; KECK et al., 2005).

A secagem por pulverização (*spray drying*) é a técnica de preparação de micro e nanopartículas secas que mais tem se destacado no desenvolvimento de produtos farmacêuticos em pó. Além de conferir as vantagens das dispersões sólidas, comparada a outras técnicas de secagem, a secagem por pulverização é um processo barato e simples, que permite um maior controle sobre a morfologia e tamanho de partículas e a utilização de condições mais brandas durante o processo, mantendo a integridade, por exemplo, de compostos sensíveis ao calor e é aplicável a uma diversidade de materiais (CHAN et al., 2015; ESTEVINHO et al., 2013; NANDIYANTO et al., 2011).

Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de micropartículas híbridas em pó inéditas constituídas de uma matriz biodegradável de quitosana incorporada de partículas de nanogéis biocompatíveis sensíveis à temperatura e ao pH para controlar a liberação de cetoprofeno e aumentar sua solubilidade através da sua amorfização. Cetoprofeno foi encapsulado em nanopartículas de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol), sintetizadas via polimerização por precipitação e dispersas em hidrogel, as quais foram incorporadas em matriz de quitosana com os objetivos de melhorar a adesão das micropartículas híbridas no local de liberação e de auxiliar no controle de liberação do fármaco. As micropartículas híbridas foram preparadas por interação eletrostática entre os polímeros dispersos em meio aquoso, seguida de secagem por pulverização (*spray drying*) a fim de melhorar a estabilidade do produto final.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sistema de liberação controlada de fármacos

Todo medicamento ao ser administrado deve ser absorvido pelo organismo, garantindo que o princípio ativo da formulação esteja disponível para causar o efeito terapêutico esperado no tecido alvo, ou seja, o efeito farmacológico desejado no local de atuação. Cada fármaco possui uma velocidade de absorção própria, de acordo com suas propriedades físico-químicas, seu grau de pureza, sua forma farmacêutica (cápsulas, comprimidos, injeções, pomadas, xaropes) e o seu local de atuação. Essas características determinam a biodisponibilidade do fármaco, que se trata da quantidade de princípio ativo que estará disponível para a sua absorção e atuação no tecido alvo durante uma unidade de tempo (AGORAM et al., 2001).

Um dos maiores impasses enfrentados pelas indústrias farmacêuticas consiste em aumentar a solubilidade e a biodisponibilidade dos fármacos. A maioria desses compostos é pouco solúvel em meio aquoso, apresentando elevada hidrofobicidade e também uma elevada massa molar. Isso contribui para uma menor biodisponibilidade desses compostos e um perfil cinético de liberação indefinido, principalmente de fármacos administrados oralmente, os quais estão susceptíveis às condições ambientais do sistema gastrointestinal (ácido, base, degradação enzimática). A fim de que esses fármacos alcancem uma exposição sistêmica *in vivo* desejada, a indústria farmacêutica tem desenvolvido sistemas de administração de fármacos, os quais envolvem a formação de sais, a utilização de excipientes solubilizantes, agentes de complexação, redução de tamanho de partículas, amorfização, formação de dispersões sólidas, etc (GU et al., 2015; CHAN et al., 2015). Os sistemas de administração convencionais implicam na administração das doses de medicamentos em intervalos de tempo, o que pode não garantir que a concentração de medicamento permaneça dentro da faixa terapêutica durante o intervalo entre as administrações. Após um crescente número de administrações, há um aumento da concentração do princípio ativo no corpo, e então, essa concentração diminui devido a sua excreção e metabolização pelo organismo. A faixa terapêutica compreende o intervalo entre as concentrações mínima e máxima de fármaco no corpo, que garantirão que o efeito

terapêutico (desejado) do princípio ativo seja alcançado. A concentração mínima de fármaco eficaz no alcance do efeito terapêutico é denominada limiar do nível sub-terapêutico, enquanto a concentração máxima de fármaco tolerada pelo organismo é denominada limiar do nível tóxico (VILAR et al., 2012; RAO 2013). A **Figura 2.1** mostra a variação da concentração de um princípio ativo no organismo humano ao longo do tempo, de acordo com a forma e a dosagem administrada. A **Figura 2.1** também compara um sistema de administração convencional com um sistema de administração ideal do tipo liberação prolongada.

Figura 2.1- Concentração de um princípio ativo ao longo do tempo após sua administração: (a) dose oral (b) overdose oral (c) intravenosa (d) liberação controlada do tipo prolongada

Fonte: Adaptado de Rao et al. (2013).

No sistema de administração de liberação ideal, a concentração do princípio ativo no organismo é controlada, mantendo-se dentro da faixa terapêutica por um período de tempo mais longo que os sistemas de administração de fármacos convencionais. Por isso, esses sistemas também são denominados sistemas de liberação controlada de fármacos. Além da redução do número de administrações, o que ajuda a minimizar possíveis efeitos colaterais no paciente, os sistemas de liberação controlada podem aumentar o tempo de permanência do princípio ativo no local de liberação melhorando sua biodisponibilidade. Além disso, esses sistemas também podem ser utilizados para aumentar a solubilidade de um princípio ativo, protegê-lo contra degradação química ou enzimática e também podem ser utilizados para a liberação de fármacos em tecidos específicos (VILAR et al., 2012). O sistema de liberação controlada apresentado na **Figura 2.1** é um sistema prolongado. Além

desse sistema, os sistemas de liberação controlada podem ser classificados em outros três mecanismos de liberação, os quais estão apresentados esquematicamente na **Figura 2.2**.

Figura 2.2- Classificação dos sistemas de liberação controlada quanto ao mecanismo de liberação

Fonte: Baseado em Vilar et al. (2012).

2.2 Polímeros biocompatíveis e biodegradáveis

A farmacologia tem utilizado polímeros biodegradáveis e/ou biocompatíveis para a preparação dos sistemas de liberação controlada. A biocompatibilidade é definida como a capacidade do material de ser tolerado pelo organismo, sendo incapaz de causar reações alérgicas ou inflamatórias, e de interferir em funções vitais e metabólicas (MEDEIROS et al., 2011). Já os polímeros biodegradáveis são materiais de origem natural ou sintética que podem ser degradados por hidrólise ou por ação enzimática, absorvidos e/ou eliminados pelo organismo (NIGMATULLIN et al., 2015). Muitos desses materiais são “inteligentes” e são capazes de responderem a estímulos externos como luz, pH, temperatura, força iônica, campo magnético, entre outros. Essa resposta é baseada especialmente em uma mudança da estrutura física do material, a qual resulta, por exemplo, na erosão,

intumescimento e/ou contração da matriz polimérica ao receber o estímulo (FLEIGE, et al., 2012). As matrizes poliméricas podem interagir covalentemente com o fármaco, melhorando a internalização ou a especificidade celular, alcançando liberações com perfil cinético desejado no tecido alvo proposto. Também podem ser utilizadas para encapsular fármacos ou como material dispersante, a fim de melhorar a solubilidade e estabilidade do fármaco, e diminuir efeitos do sistema imunológico através do controle de distribuição do fármaco no tecido alvo (VILAR et al., 2012). Os polímeros sensíveis ao pH, à temperatura ou a uma combinação dos dois estímulos, são os mais utilizados nos estudos de sistemas de liberação controlada de fármacos em humanos. O organismo humano em um estado patológico pode apresentar variações de pH com relação ao pH fisiológico do sangue e do intestino (pH 7,4) e do estômago (pH 1,2), por exemplo. Polímeros sensíveis ao pH podem ser usados para liberação de fármacos em tecidos com pH característico ou em tecidos inflamados, infectados ou malignos (presença de células cancerosas), os quais apresentam pH inferior a 7,4. A aplicação desses polímeros dependerá do seu grau de ionização no pH do tecido, no qual irá atuar. O organismo humano também apresenta uma condição de homeostase, na qual a temperatura fisiológica mantém-se estável em um estado sadio ($\sim 37^{\circ}\text{C}$). Problemas como inflamações, hipertermia ou hipotermia causam a variação da temperatura corporal ou de tecidos lesionados. Essa variação de temperatura pode funcionar como um “gatilho” para acionar a liberação de fármacos a partir de alguns polímeros sensíveis à temperatura, os quais serão abordados a seguir (FLEIGE, et al., 2012; LIU et al., 2014).

2.3 Polímeros sensíveis à temperatura

Os polímeros sensíveis à temperatura, ou termossensíveis, apresentam como característica principal a mudança na solvatação das cadeias poliméricas pelo solvente de acordo com a variação da temperatura do meio. A temperatura crítica, na qual ocorre essa transição de fase pode ser denominada Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST). A transição de fase está relacionada com alterações no equilíbrio de interações hidrofílicas e hidrofóbicas do sistema polímero-solvente. Para os polímeros que apresentam LCST, quando o meio (ex.: água) está a uma temperatura inferior à LCST, suas

cadeias encontram-se enoveladas (*coil*) e solvatadas pelas moléculas de água. Nesse caso as interações hidrofílicas, principalmente ligações hidrogênio, entre cadeias poliméricas e moléculas de água são predominantes no sistema. O aumento da temperatura fornece ao sistema a entalpia necessária para o rompimento de ligações hidrogênio, favorecendo o predomínio de interações hidrofóbicas entre cadeias poliméricas (polímero-polímero). Ao atingir a LCST, as cadeias poliméricas antes solvatadas, perdem solubilidade, assumindo uma estrutura de glóbulo compacto (SCHATTLING et al., 2014; MARQUES et al., 2015).

Alguns exemplos de polímeros termossensíveis são apresentados na **Tabela 2.1** com seus respectivos valores de LCST. Estes polímeros possuem grupos hidrofílicos, tais como amida, hidroxila ou ester, que interagem com as moléculas de água do sistema por ligações hidrogênio (LIU; FRAYLICH; SAUNDERS, 2009).

Tabela 2.1- Exemplos de polímeros termossensíveis, com seus respectivos valores de LCST

Polímero	Abreviação	LCST (°C)
Poli (óxido de propileno)	PPO	10-20
Poli(<i>N</i> -n-propilacrilamida)	PNNPAam	25
Poli(<i>N</i> -vinilcaprolactama)	PNVCL	32-38
Poli(etoxi-propilacrilamida)	PEPA	~32
Poli(<i>N</i> -isopropilacrilamida)	PNIPAam	32-36
Poli(éter metil vinílico)	PVME	33,8
Poli (2-isopropil-2-oxazolina)	PIPOZ	~36
Hidroxipropilcelulose	HPC	42
Poli (<i>N</i> , <i>N</i> -bis-2-metoxietilacrilamida)	PBMEAm	49
Poli(2-dimetilamino) etil metacrilato	PDMAEMA	50
Metil celulose	MC	50
Poli (<i>N</i> -3-metoxipropilacrilamida)	PMPAm	> 60
Poli (2-etil-2-oxazolina)	PEOZ	~62
Etil-hidroxietilcelulose	EHEC	65
Poli (<i>N</i> , <i>N</i> -etil-metilacrilamida)	PEMA	70
Poli (<i>N</i> -etilacrilamida)	PEA	82

Fonte: (LIU, FRAYLICH; SAUNDERS, 2009).

Um dos polímeros termossensíveis sintéticos mais estudados na literatura é a poli(*N*-isopropilacrilamida) (PNIPAam), a qual possui uma LCST de aproximadamente

32°C (**Tabela 2.1**). Sua LCST próxima à temperatura fisiológica despertou o interesse dos pesquisadores para sua aplicação em liberação controlada de fármacos. Esse polímero possui unidades repetidas constituídas de grupos hidrofílicos (amida) e hidrofóbicos (isopropil). A transição de fases da PNIPAAm está esquematizada na **Figura 2.3**. Abaixo da LCST, as macrocadeias de PNIPAAm encontram-se solvatadas pelas moléculas de água por meio de ligações hidrogênio. O aumento de temperatura causa o rompimento dessas interações hidrofílicas, favorecendo as interações polímero-polímero (hidrofóbicas), ocasionando assim, a perda de solubilidade das macrocadeias (SUDHAKAR et al., 2015; RAMOS et al., 2011).

Figura 2.3- Ilustração do efeito de transição de fases da poli(*N*-isopropilacrilamida) (PNIPAAm)

Fonte: Medeiros et al. (2011).

Apesar do comportamento termossensível da PNIPAAm ser bastante estudado, sua utilização apresenta limitações para aplicações *in vivo*, devido a problemas de biocompatibilidade. Dependendo da concentração de PNIPAAm, a quantidade de grupos amino liberados durante a hidrólise pode ser tóxica para o organismo (VIHOLA et al., 2005). Assim, a biomedicina tem estudado outros polímeros termossensíveis, como a poli(*N*-vinilcaprolactama), que possam contornar esses problemas.

Assim como seu monômero, *N*-vinilcaprolactama (NVCL), a poli(*N*-vinilcaprolactama) (PNVCL) (**Figura 2.4**) é solúvel na maioria dos solventes orgânicos e em água. No caso da PNVCL, sua solubilidade em água aumenta com a diminuição da temperatura. Comparada à PNIPAAm, o grupo amida da PNVCL é cíclico e o nitrogênio está diretamente ligado à cadeia carbônica, o que não permite a liberação de grupos amino

durante a hidrólise (SUDHAKAR et al., 2015; LIU et al., 2014). Sua biocompatibilidade foi estudada por Vihola et al. (2005) através da avaliação da viabilidade celular em meios aquosos com diferentes concentrações de polímero e contendo PNVCL com diferentes massas molares. Duas culturas de células entéricas (Caco-2 e Calu-3) foram utilizadas nos testes e os resultados mostraram que PNVCL com massas molares entre $3,3 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1}$ e $1,5 \times 10^6 \text{ g.mol}^{-1}$ não apresentaram toxicidade para as células entéricas, enquanto que a concentração de homopolímero tolerante pelas células foi inferior a 5 mg.mL^{-1} (5mg de polímero por mL de meio celular).

Figura 2.4- Estrutura química do polímero poli(*N*-vinilcaprolactama) (PNVCL)

Fonte: Liu et al. (2014).

É possível modular a LCST da PNVCL controlando o comprimento de suas cadeias e por meio da adição de comonômeros. A adição de comonômeros hidrofílicos, por exemplo, aumenta a energia necessária para rompimento das interações hidrofílicas e consequentemente aumenta a LCST. O oposto se aplica à adição de comonômeros hidrofóbicos (YANUL et al., 2001; LIU et al., 2014).

A transição de fases da PNVCL está esquematizada na **Figura 2.5**. Abaixo de sua LCST, as cadeias poliméricas de PNVCL encontram-se solvatadas pela água por ligações hidrogênio. Entretanto, temperaturas acima da LCST causam o rompimento das ligações hidrogênio, devido ao calor fornecido ao sistema, favorecendo as interações polímero-polímero e afastando as moléculas de água das cadeias de PNVCL (CORTEZ-LEMO; LICEA CLAVERIE, 2016).

Figura 2.5- Esquema representativo da sensibilidade à temperatura da poli(*N*-vinilcaprolactama)

Fonte: Próprio autor.

2.4 Polímeros sensíveis ao pH

Os polímeros sensíveis ao pH são polieletrólitos capazes de responder a mudanças de pH do meio, uma vez que possuem grupos ionizáveis, como ácidos e bases em suas cadeias. O grau de ionização desses grupos varia conforme o pH do meio, principalmente para valores de pH próximos ao pK_a desses grupos. A mudança repentina da quantidade de grupos ionizados causa alterações no volume hidrodinâmico das cadeias poliméricas. Quando o pH do meio é superior ao pK_a dos grupos aniônicos ou inferior ao pK_a dos grupos catiônicos, os grupos ácido ou bases ionizados, respectivamente, repelem entre si e as cadeias poliméricas se afastam, proporcionando um aumento do volume hidrodinâmico ocupado por essas cadeias. Em contrapartida, quando o pH do meio é inferior ao pK_a dos grupos aniônicos ou superior ao pK_a dos grupos catiônicos, o grau de ionização desses grupos diminui e as cadeias se aproximam causando a diminuição do volume hidrodinâmico do sistema (**Figura 2.6**) (MARQUES et al., 2015). Alguns exemplos de polieletrólitos estudados para aplicações biomédicas estão apresentados na **Tabela 2.2**.

Figura 2.6- Representação esquemática da sensibilidade ao pH de polímeros polieletrólitos

Fonte: Próprio autor.

Tabela 2.2- Polímeros e copolímeros polieletrólíticos estudados para aplicações biomédicas

Polímero/Copolímero	Natureza polieletrólítica	Referências
Quitosana	Catiônico	NOSHAD et al., 2015 MAESTRELLI et al., 2015
Alginato	Aniônico	MAESTRELLI et al., 2015
Quitosana/poli(acrilamida-co-ácido itacônico)	Catiônico/aniônico	BOCOURT et al., 2014
Carboximetilcelulose-poli(ácido acrílico)	Aniônico	GAO et al., 2014
Carboximetilquitosana-g- poli(N-isopropilacrilamida)-g-poli(ácido acrílico)	Anfótero/aniônico	JANKAEW et al., 2015
Quitosana-sílica	Catiônico	NETO et al., 2014
Poli(N-vinilcaprolactama-co-ácido itacônico)	Aniônico	WILKE et al., 2015
Poli(N-vinilcaprolactama-co-ácido metacrílico)	Aniônico	MUNDARGI; RANGASWAMY; AMINABHAVI, 2011
Poli(acrilamida-co-ácido itacônico)	Aniônico	BERA et al., 2015
Pectina	Aniônico	MAESTRELLI et al., 2015
Poli(N-vinilcaprolactama-co-2-dimetil-aminoetilmetacrilato)	Catiônico	SUDHAKAR et al., 2015

Fonte: Próprio autor.

2.4.1 Ácido itacônico

Dois monômeros bastante utilizados para a síntese de polímeros e copolímeros sensíveis ao pH são o ácido acrílico (AA) e o ácido itacônico (AI) (**Figura 2.7**). O ácido acrílico possui um grupo carboxílico cujo pK_a é 4,17, enquanto o ácido itacônico possui dois grupos carboxílicos, sendo o pK_{a1} =3,85 e o pK_{a2} = 5,45. Diferentemente do ácido acrílico, o ácido itacônico não homopolimeriza, constituindo uma vantagem para copolimerizações realizadas em processo batelada. Nesse tipo de processo os monômeros são adicionados ao mesmo tempo no reator e como o ácido acrílico geralmente possui uma razão de reatividade alta, com relação a outros comonômeros, isso aumenta a probabilidade de sua homopolimerização. A utilização de um comonômero que não homopolimeriza, como ácido itacônico, aumenta a probabilidade de formação dos copolímeros aleatórios. Além dessa vantagem, o ácido itacônico também pode ser produzido a partir da fermentação de carboidratos, realizada por fungos, como o *Aspergillus terreus*, diferentemente do ácido acrílico que é obtido apenas por via sintética. (MEDEIROS et al., 2015; ÇAVUS; ÇAKAL, 2012; WILLKE; VORLOP, 2001; BOCOURTE et al., 2014).

Figura 2.7- Estrutura química dos ácidos acrílico e itacônico

Fonte: Próprio autor.

Medeiros et al. (2015) sintetizaram os copolímeros poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido acrílico) (poli(NVCL-*co*-AA)) e poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico) (poli(NVCL-*co*-AI)) sensíveis à temperatura e ao pH, a fim de estudar diferenças quanto à incorporação dos comonômeros AA e AI às macrocadeias de PNVCL e diferenças entre a estabilidade e a sensibilidade das micropartículas aos estímulos temperatura e pH. A síntese dos copolímeros foi realizada via polimerização por precipitação em meio tamponado (pH 4,5) e, livre de surfactantes. A *N,N'*-metileno-*bis*-acrilamida (MBA) foi utilizado como agente reticulante para formação de nanogéis, que será explicado mais adiante. Os resultados mostraram que o pH do meio reacional, em 4,5, ou seja, acima do pK_a do AA ($pK_a = 4,17$) e do pK_{a1} do AI ($pK_{a1} = 3,85$), foi imprescindível para a

estabilização coloidal das partículas, uma vez que a síntese foi realizada na ausência de surfactantes. As partículas sintetizadas com AI apresentaram maior estabilidade coloidal do que as partículas sintetizadas com AA, devido ao fato do ácido acrílico tender a homopolimerizar. Isso possibilita a formação de cadeias de poli(ácido acrílico) hidrossolúveis, o que pode levar à diminuição da concentração de grupos carboxílicos ao longo das cadeias que constituem as partículas do nanogel, e consequentemente, causar interações entre partículas, resultando em aumento do diâmetro e até mesmo a coagulação parcial das partículas do nanogel. Assim as diferenças no mecanismo e na cinética de homopolimerização e de copolimerização dos comonômeros AA e AI podem explicar a formação de nanogéis com microestruturas e distribuição de comonômeros distintas.

Os autores também destacaram que as concentrações dos comonômeros AA e AI influenciaram na sensibilidade à temperatura das partículas. Os pesquisadores confirmaram a diminuição do diâmetro hidrodinâmico dos nanogéis com o aumento da temperatura do meio utilizando a técnica de espalhamento de luz e, definiram a LCST como a temperatura em que ocorreu uma inversão de concavidade da curva de diâmetro hidrodinâmico em função da temperatura. Essa mudança de concavidade caracteriza a transição de volume desses nanogéis e quanto maior foram as concentrações de AA e AI utilizadas, maior foi a temperatura em que ocorreu essa transição. O estudo, portanto, confirmou que a adição dos comonômeros hidrofílicos AA e AI às cadeias de PNVCL contribuíram para o aumento da LCST. Porém, no caso do AI, o aumento de sua concentração dificultou a diferenciação da LCST do copolímero poli(NVCL-*co*-AI) utilizando a técnica de espalhamento de luz. MEDEIROS et al. (2015) explicaram que o aumento da concentração de AI e o fato do AI possuir um grupo carboxílico a mais que o AA, proporcionam maior número de interações entre grupos carboxílicos ionizados e moléculas de água, resultando em uma maior absorção de água no interior dos nanogéis. Consequentemente, mais ligações hidrogênio precisam ser rompidas, para que as partículas do nanogel atinjam um volume crítico e ocorra a transição de fase, levando ao aumento da LCST.

2.4.2 Quitosana

Quitosana tem se mostrado um biomaterial de baixo custo interessante para muitas aplicações biomédicas por ser derivada de um polissacarídeo natural. Esse heteropolissacarídeo pode ser obtido a partir de fontes renováveis como a quitina, o segundo polissacarídeo mais abundante da natureza, encontrado no exoesqueleto de artrópodes, e também pode ser encontrada naturalmente em alguns fungos (HERNANDEZ et al., 2004; DASH et al., 2011). A quitina é um polímero constituído por unidades repetidas de 2- acetamido-2-desoxi-*D*-glicopirranose (*GlcNAc*) unidas por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1\rightarrow4)$ (**Figura 2.8 (a)**) (YOUNES et al., 2016). Apesar de ser naturalmente abundante, a quitina não possui muitas aplicações devido a sua baixa solubilidade em muitos solventes. Essa baixa solubilidade é decorrente da elevada cristalinidade da quitina, a qual é caracterizada pela grande quantidade de ligações hidrogênio entre suas cadeias (DASH et al., 2011). Na indústria, o processo de conversão de quitina em quitosana inicia com a extração da quitina do exoesqueleto de crustáceos através de um tratamento ácido que dissolve o carbonato de cálcio presente no exoesqueleto. Em seguida é realizado um tratamento básico para a solubilização de proteínas, que também compõem o exoesqueleto. Além disso, pode ser realizada uma etapa de descoloração para remover restos de pigmentos objetivando um produto incolor. Esses tratamentos são adaptados para cada fonte de quitina devido a possíveis diferenças composicionais entre matérias-primas (RINAUDO et al., 2006; EMMANUEL et al., 2015). A quitina resultante precisa ser classificada em termos de pureza, coloração, quantidade de proteína residual e de pigmentos, pois dependendo dos níveis desses fatores, o polímero pode causar problemas para pacientes, no caso de produtos biomédicos. Após a descoloração, é realizado o processo de *N*-desacetilação das unidades de *GlcNAc*, no qual os grupos acetamida ($-\text{NHCOCH}_3$) da quitina são convertidos em grupos amino (NH_2), mediante hidrólise alcalina na posição acetilada (RINAUDO et al., 2006). Essas reações são conduzidas por meio de soluções de NaOH a temperaturas entre 90°C e 120°C durante 4 a 5h, e quando o grau de desacetilação da quitina ultrapassa 60%, o material é denominado quitosana (DASH et al., 2011; GOY et al., 2004). A quitosana é classificada então, como um copolímero catiônico semicristalino composto por unidades estruturais de 2-amino-2-desoxi-*D*-glicopirranose (*GLcN*) e 2-acetamido-2-desoxi-*D*-glicopirranose (*GlcNAc*) unidas por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1\rightarrow4)$ (**Figura 2.8 (b)**). Sua

solubilidade é um parâmetro difícil de ser controlado, pois depende do seu grau de desacetilação, da concentração iônica e do pH do meio utilizado para sua solubilização, do ácido utilizado para protonação dos grupos amino, da distribuição das unidades de *GlcNAc* ao longo da cadeia, das condições de obtenção e de secagem do polissacarídeo. O pK_a dos grupos $-NH_2$ das unidades de *GLcN* varia de acordo com o grau de desacetilação, geralmente quitosanas menos acetiladas são solúveis em pH 4,5 – 5,0 e acima de pH 6,0 é pouco solúvel, devido à desprotonação dos grupos amino (DASH et al., 2011).

Figura 2.8- Estrutura química da quitina (a) e quitosana (b)

Fonte: Baseado em Szymańska e Winnicka (2015).

Quanto à biodegradabilidade e à biocompatibilidade, os estudos atualmente mostram que a quitosana é considerada um material atóxico, biocompatível e biodegradável (YOUNES et al., 2016). Porém a diversidade de tipos de quitosana, as quais podem variar quanto ao grau de desacetilação, massa molar, pureza e modificações químicas, dificultam a aprovação de todos os tipos de quitosana como um material geralmente reconhecido como seguro (GRAS) pela *Food and Drug Administration* (FDA). Embora a quitosana seja um material produzido a partir de uma modificação química de um biopolímero, sua degradação é possível através de ação química e de algumas enzimas. Essa degradação também irá depender da massa molar e do grau de desacetilação. Massas molares menores podem facilitar a atuação enzimática, favorecendo a formação de resíduos menores, os quais são excretados mais facilmente pelo organismo. Além disso, a quitosana menos desacetilada possui uma estrutura mais próxima a do seu biopolímero de origem, a quitina, o que também pode aumentar a sua biodegradabilidade, considerando que outros tipos de enzimas também consigam degradar a quitosana nesse caso (KEAN; THANOU, 2010).

A quitosana tem sido utilizada em uma variedade de aplicações biomédicas, tais como membranas de hemodiálise, sistemas de administração de fármacos, materiais de cobertura ortopédica, dental e pele artificial (CHEN; USHIDA; TATEISHI, 2002). Especificamente para os sistemas de administração de fármacos, a presença de grupos catiônicos ($-\text{NH}_3^+$) nas cadeias de quitosana, possibilitam sua utilização no preparo de sistemas de liberação controlada sensíveis ao pH para aplicações nasal, oftálmica, bucal, vaginal e gastrointestinal e dermatológica (BALAMURUGAN, 2012). Além da sensibilidade ao pH, os grupos amino auxiliam na adesão da quitosana à mucosa (mucoadesividade) através da formação de ligações hidrogênio com as glicoproteínas do tecido. Isso favorece o aumento da biodisponibilidade do princípio ativo e propriedades de mucoadesividade ao copolímero (WANG et al., 2011).

2.5 Combinação de sensibilidade à temperatura e ao pH

Os sistemas de liberação sensíveis à temperatura e ao pH são os sistemas sensíveis a múltiplos estímulos mais estudados, e sua preparação baseia-se, principalmente, na incorporação de comonômeros que contenham grupos ionizáveis a cadeias de polímeros termossensíveis (CHENG et al., 2013). A **Figura 2.9** mostra um esquema da transição de fases de um copolímero termossensível contendo comonômeros com grupos carboxílicos ionizáveis. Como foi estudado por Medeiros et al. (2015), a adição de comonômeros com grupos ionizáveis além de conferir sensibilidade ao pH também pode modificar a LCST de polímeros termossensíveis, devido a alterações do balanço de interações hidrofílicas e hidrofóbicas do sistema. No esquema apresentado, os comonômeros possuem grupos hidrofílicos aniônicos, os quais contribuem para o aumento da LCST e para o aumento do volume hidrodinâmico do sistema em meios com pH acima do pK_a desses grupos.

Figura 2.9- Representação esquemática da sensibilidade a múltiplos estímulos (pH e temperatura) de copolímeros inteligentes.

Fonte: Adaptado de Kratz, Hellweg e Eimer (2000).

Na literatura tem sido reportados trabalhos sobre a utilização de copolímeros sensíveis à temperatura e ao pH para liberação de fármacos: poli(acrilamida-*co*-ácido itacônico) (BOCOURTE et al., 2014), carboximetilquitosana-*g*-poli(*N*-isopropilacrilamida)-*g*-poli(ácido acrílico) (JANKAEW et al., 2015), poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico) (BERA et al., 2015), poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácidometacrílico) (MUNDARGI; RANGASWAMY; AMINABHAVI et al., 2011);

poli(acrilamida-*co*-ácido itacônico) (BERA et al., 2015) e poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-2-dimetil-aminoetilmetacrilato) (SUDHAKAR et al., 2015) (**Tabela 2.2**).

Mundargi, Rangaswamy e Aminabhavi (2011) sintetizaram hidrogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido metacrílico) via polimerização radicalar livre para aplicação em liberação controlada do hormônio insulina. O pH ideal para a liberação de insulina foi investigado através da realização de ensaios de liberação *in vitro*, onde as primeiras 2h de teste foram realizadas em pH 1,2 a 37°C e as seguintes 4h de testes realizadas em pH 7,4 a 37°C, simulando as condições gastrointestinais do corpo humano. Os resultados mostraram que nas primeiras 2h de teste não houve liberação de insulina, enquanto que nas 4h restantes quase 100% da insulina foi liberada. Os autores atribuíram o maior percentual de liberação de insulina na segunda condição testada devido ao fato do pH 7,4 estar acima do pK_a dos grupos carboxílicos das unidades de ácido metacrílico ($pK_a = 4,7$), favorecendo a repulsão entre as cadeias poliméricas e a liberação da insulina. Além disso, a temperatura de 37°C favorece as interações hidrofóbicas entre cadeias de PNVCL e sua diminuição de volume, o que auxilia na expulsão de moléculas de água do sistema e consequentemente na difusão da insulina.

Sudhakar et al. (2015) sintetizaram nanopartículas de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-2-dimetil-aminoetilmetacrilato) via polimerização radicalar livre para a liberação controlada de 5-Fluorouracil, um agente antineoplásico hidrofílico e de natureza ácida, utilizado em tratamentos antitumorais. Esse fármaco é principalmente aplicado no tratamento de cânceres gástricos, hepatocelular, pancreático, de mama e de fígado. Os tecidos cancerosos, como já mencionado anteriormente, apresentam um pH inferior aos dos tecidos normais (7,4). Baseados nessas informações, os autores utilizaram duas temperaturas (25°C e 37°C) e quatro valores de pH (5,0; 6,0; 6,8 e 7,4) nos testes de liberação do fármaco. Os resultados mostraram que a temperatura de 25°C favoreceu uma liberação mais rápida do fármaco devido ao estado de solvatação das cadeias de PNVCL, o que facilita a difusão do fármaco pela matriz polimérica, porém 25°C não simula a temperatura fisiológica do corpo humano. Quanto ao pH, os testes foram realizados a 37°C e quanto mais ácido o meio, maior foi o percentual de fármaco liberado após 24h de teste. Em pH 5,0 o percentual de fármaco liberado após 24h de teste foi superior a 90%. Os grupos amino do 2-dimetil-aminoetilmetacrilato apresentam $pK_a = 6,0$, portanto em meios com pH inferior a 6,0, esses grupos estão no seu estado protonado, e a consequente repulsão eletrostática entre as cadeias poliméricas favoreceu a liberação do fármaco.

Montes et al. (2015) sintetizaram copolímeros de quitosana enxertada com poli(*N*-vinilcaprolactama) (PNVCL) via radiação- γ , visando a produção de filmes sensíveis ao pH e à temperatura para possível aplicação biomédica. Nos estudos de sensibilidade ao pH e à temperatura, os pesquisadores constataram que a adição de PNVCL às cadeias de quitosana aumentaram a hidrofiliidade dos copolímeros à temperatura ambiente, favorecendo a solubilização da quitosana em meio aquoso, uma vez que sua baixa solubilidade em alguns solventes pode limitar sua aplicação. A capacidade máxima de intumescimento dos filmes foi obtida em condições ácidas ($\text{pH} < 4,75$) e à temperatura de 20°C , devido à repulsão eletrostática entre grupos amino protonados da quitosana e ao favorecimento de interações hidrofílicas entre cadeias de PNVCL e o meio aquoso ($\text{LCST} = 34,5^{\circ}\text{C}$, fornecida pelos autores). Os autores também relataram que a incorporação de PNVCL às cadeias de quitosana aumentaram o pH crítico de transição de volume dos filmes. Para os filmes de quitosana enxertada com PNVCL, o pH crítico para o aumento de volume foi de 4,75, como já foi mencionado, enquanto que para os filmes de quitosana o pH crítico foi de 3,75. Segundo os pesquisadores essa diferença pode ser atribuída à mudança de características do intumescimento em resposta ao meio. Em condições ácidas e em temperaturas abaixo da LCST da PNVCL, a repulsão entre cadeias de quitosana favorece a entrada de moléculas de água e interação dessas moléculas com cadeias daa PNVCL. Os autores também avaliaram o intumescimento dos filmes em pH acima de 7,0, e verificaram que houve intumescimento significativo dos filmes, uma vez que nessa condição os grupos amino não estão protonados.

2.6 Sistemas micro e nanoparticulados para a liberação controlada de fármacos

A redução de tamanho de sistemas de liberação, compostos de partículas de fármacos dispersas ou encapsuladas em matrizes poliméricas, para escalas micro e nanométrica, tem-se mostrado uma tecnologia eficiente para aumentar a biodisponibilidade e solubilidade de fármacos, devido ao aumento da área superficial do sistema exposta ao meio de dissolução (HAGGAG et al., 2015; LEE et al., 2011). Essa redução de tamanho permite que os sistemas de liberação possam penetrar em tecidos do corpo humano e células mais facilmente e que a administração seja realizada por várias vias: oral, pulmonar, nasal, parentética, intraocular. Porém com relação à via intravenosa, as

microformulações não são recomendadas, pois podem causar a obstrução de veias (VILAR et al., 2012). A farmacologia classifica os sistemas nanoparticulados como sistemas coloidais, os quais apresentam dimensões entre 10 e 1000 nm e que sejam capazes de veicular fármacos (FRANCO, 2013). As formas de sistemas micro e nanoparticulados mais aplicados em sistemas de liberação de fármacos são hidrogéis (ZHANG et al., 2015), esferas (HUANG et al., 2014), cápsulas (CONTRI et al., 2014), partículas magnéticas (MEDEIROS et al., 2011), emulsão (KOYNOVA; TENCHOV, 2015), *quantum dots* (YOUNG et al., 2012), lipossomas (MATOUGUI et al., 2016), partícula lipídica sólida (HOFMEISTER; LANDFESTER; TADEN, 2015), micelas (WU et al., 2015) e ciclodextrina (BONNET et al., 2015). Exemplos desses sistemas estão representados esquematicamente na **Figura 2.10**.

Figura 2.10- Representação esquemática de sistemas micro e nanoparticulados aplicados em liberação controlada de fármacos

Fonte: Baseado em Zhang et al. (2015); Huang et al. (2014); Contri et al. (2014); Medeiros et al. (2011); Koynova e Tenchov (2015); Young et al. (2012); Matougui et al., (2016); Hofmeister; Landfester e Taden (2015); Wu et al. (2014); Bonnet et al. (2015).

2.6.1 Microgéis e nanogéis

Os hidrogéis foram os primeiros sistemas farmacêuticos para liberação de fármacos a serem testados pela biomedicina, pois tem apresentado excelentes características de biocompatibilidade, as quais são atribuídas as suas propriedades físicas, que simulam o comportamento do tecido vivo, especialmente considerando sua capacidade de absorção de água e sua elasticidade (VILAR et al., 2012). A literatura reporta diferentes formas de classificações dos hidrogéis que se diferenciam quanto a sua natureza polieletrólítica, às propriedades físicas, ao tipo de resposta a um estímulo, à reticulação de suas cadeias, ao mecanismo utilizado para sua síntese, à origem dos seus componentes e à degradabilidade. A **Figura 2.11** apresenta detalhadamente as diferentes formas de classificação dos hidrogéis.

Figura 2.11- Classificação de hidrogéis baseada em diferentes propriedades

Fonte: Adaptado de Ullah et al. (2015)

Esses sistemas são compostos por cadeias poliméricas reticuladas, que conferem a esses dispositivos biomédicos uma morfologia tridimensional e insolubilidade em meio aquoso. Os hidrogéis apresentam alta afinidade pela água devido à presença de grupos hidrofílicos ($-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{CONH}-$ e $-\text{SO}_3\text{H}$) em suas cadeias, dando a esses materiais a capacidade de absorção e de expulsão de água, conforme mudanças ocorridas no equilíbrio de interações hidrofílico-hidrofóbicas do sistema (WILKE et al., 2015; GANJI; VASHEGHANI-FARAHANI, 2009; ULLAH et al., 2015). O mecanismo de absorção, ou seja, o mecanismo de intumescimento dos hidrogéis pode ser complexo, embora esteja relacionado ao tipo de matriz polimérica “inteligente” que o compõe e sua interação com o meio aquoso, em resposta ao estímulo recebido, pH e temperatura, principalmente (ULLAH et al., 2015). Em um primeiro momento os grupos polares hidrofílicos da matriz de hidrogel são hidratados, formando ligações primárias mais difíceis de serem rompidas. Em um segundo momento, as moléculas de água também interagem com grupos hidrofílicos expostos, formando ligações secundárias. As ligações

primárias e secundárias entre matriz polimérica e moléculas de água formam o total de ligações mais difíceis de serem rompidas, também chamadas de “água ligada”. Por último, a estrutura reticulada resiste à pressão osmótica exercida pela água, que direciona o gradiente de pressão para uma diluição infinita, ou seja, para o interior do hidrogel. Essas moléculas de água absorvidas livremente pelo hidrogel, as quais causam seu intumescimento, são chamadas de “água livre”. A água livre preenche os espaços entre as estruturas reticuladas ou cadeias poliméricas e o centro dos poros maiores. A quantidade de água absorvida por um hidrogel sensível ao pH e à temperatura dependerá da temperatura e do pH do meio, e consequentemente, de interações específicas entre moléculas de água e cadeias poliméricas, como foi mencionado (ULLAH et al., 2015).

Os hidrogéis podem ser preparados na escala micro e nanométrica, e a maior vantagem dos microgéis e nanogéis com relação a hidrogéis compostos de partículas de maior tamanho, consiste em uma maior área superficial de partícula e na formação de uma superfície com maior molhabilidade. A redução de tamanho e uma superfície com maior molhabilidade favorecem as interações entre as cadeias poliméricas e o meio aquoso, consequentemente, melhora o processo de difusão de fármacos (WILKE et al., 2015).

O trabalho de Asoh et al. (2006) explica claramente o princípio de intumescimento e de contração de nanogéis. Os autores investigaram a variação de volume de partículas de nanogel de poli(*N*-isopropilacrilamida-*co*-ácido acrílico) (poli(NIPAAm-*co*-AA)) sensíveis à temperatura e ao pH. Quatro estados físicos, ilustrados na **Figura 2.12**, foram definidos para esses nanogéis a partir da variação da temperatura e do pH do meio onde foram inseridos. No estado A, acima da LCST e para valores de pH abaixo do pK_a do ácido acrílico (AA), as interações hidrofóbicas do tipo polímero-polímero são predominantes e os grupos carboxílicos não estão ionizados. Nesse estado, os nanogéis estão desidratados devido ao afastamento das moléculas de água das cadeias poliméricas, consequentemente o volume do nanogel diminui. O oposto ocorre no estado D, onde a temperatura está abaixo da LCST e o pH acima do pK_a do AA. Nesta situação, as interações hidrofílicas do tipo ligações hidrogênio entre polímero e moléculas de água são favorecidas e as macrocadeias são solvatadas pelo meio aquoso. Além disso, no estado D os grupos carboxílicos ionizam, resultando em uma repulsão eletrostática entre as cadeias, e consequentemente, o volume dos nanogéis aumenta, ou seja, intumescem. Os estados B e C são intermediários, nos quais a resposta aos estímulos temperatura e pH resulta em efeitos contrários no volume do nanogel. No estado B, as macrocadeias termossensíveis tendem a contrair devido à

temperatura estar acima da LCST. Entretanto, o pH está acima do pK_a do grupo carboxílico do AA, portanto os grupos carboxílicos estão ionizados, favorecendo o intumescimento dos nanogéis. A ação contrária ocorre no estado C, onde a temperatura está abaixo da LCST. Nesse caso, as macrocadeias são solvatadas pelas moléculas de água e o nanogel intumescce. Porém como o pH é inferior ao pK_a do grupo carboxílico do AA, o qual está na sua forma molecular (não-ionizado), assim os nanogéis não intumescem.

Figura 2.12- Representação esquemática da sensibilidade à temperatura e ao pH de partículas de hidrogel

Fonte: Adaptado de Asoh et al. (2006).

Como já mencionado, a adição do agente reticulante forma a estrutura tridimensional de hidrogéis, evitando o colapso durante o intumescimento, ou seja, uma estrutura covalente irreversível (GANJI; VASHEGHANI-FARAHANI, 2009; ULLAH et al., 2015). Além disso, o agente reticulante auxilia na manutenção do fármaco encapsulado dentro da matriz polimérica e na proteção ou retardação do sistema de liberação contra possível ação degradante do meio (SUDHAKAR et al., 2015). Embora muitos desses agentes reticulantes sejam muito solúveis em água, esses podem ser tóxicos, como é o caso da *N,N'*-metileno-*bis*-acrilamida (MBA) (MEDEIROS et al., 2015; SUDHAKAR et al., 2015; WILKE et al., 2015). Nesse caso, seus monômeros residuais devem ser removidos dos hidrogéis antes de aplicações biomédicas (ULLAH et al., 2015). Atentando a esse fato, muitas pesquisas tem se voltado para o uso do monômero dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA) como agente reticulante.

Adali e Yilmaz (2009) estudaram a biocompatibilidade de partículas de quitosana (85% desacetilada) reticuladas com EGDMA por meio da avaliação de toxicidade, irritação e de lesões em ratos saudáveis, citotoxicidade em células de macacos e de efeitos hemolíticos em células sanguíneas. Os animais receberam injeções contendo extratos das partículas e foram acompanhados durante 72 horas de teste. Os resultados mostraram que os ratos não apresentaram nenhum tipo de irritação ou lesão provocada pelo material e nem sintomas toxicológicos. Nos testes citotóxicos não foram presenciadas lises celulares, mudanças morfológicas e de crescimento nas células avaliadas, porém o material apresentou efeitos hemolíticos no teste com células sanguíneas. Esses resultados levaram os autores a concluir que as partículas de quitosana reticuladas com EGDMA apresentam biocompatibilidade, mas são limitadas para aplicações intravenosas. Os autores também testaram a biodegradação do material a partir de enzimas lipase, protease e α -amilase. Os resultados mostraram que as enzimas conseguiram degradar parcialmente o material. As maiores taxas de biodegradação foram observadas em meio ácido, no qual a quitosana é solúvel e susceptível ao intumescimento, facilitando a difusão das enzimas entre as cadeias poliméricas.

2.6.2 Síntese de microgéis e nanogéis sensíveis à temperatura e ao pH via polimerização por precipitação

As partículas de microgéis e nanogéis são normalmente produzidas pela polimerização de monômeros hidrofílicos ou por modificação de polímeros pré-formados (naturais ou sintéticos). Entre as técnicas de polimerização existentes, as mais utilizadas para a preparação de microgéis e nanogéis são a polimerização em solução e a polimerização em suspensão. Os componentes principais para a produção de microgéis e nanogéis são os monômeros, incluindo o agente reticulante, o iniciador, o solvente e no caso da polimerização em suspensão, a adição de um agente estabilizante é necessária para evitar a coalescência e colapso das gotículas durante a polimerização. A grande vantagem dessas técnicas comparadas a outras técnicas de polimerização é o baixo custo e a maior facilidade de controle da temperatura, no caso da polimerização em solução, e a maior facilidade de controle da reação, no caso da polimerização em suspensão. Contudo a maior desvantagem dessas técnicas, considerando aplicações farmacológicas ou biotecnológicas,

consiste na remoção de resíduos de monômeros que não reagiram, iniciador, agente reticulante, de possíveis produtos secundários formados e no caso da polimerização em suspensão o maior problema consiste na remoção do colóide protetor e do agente espessante utilizado na síntese (ULLAH et al., 2015; MACHADO; LIMA; PINTO, 2007).

A polimerização por precipitação via mecanismo radicalar convencional é uma polimerização em solução muito utilizada na síntese de micropartículas e nanopartículas poliméricas reticuladas, esféricas e com uma faixa estreita de distribuição de tamanho. Essa técnica não necessita da adição de surfactantes, uma vez que a estabilização das partículas pode ser alcançada através da adição de comonômeros com grupos ionizáveis às macrocadeias, desde que o pH do meio reacional proporcione uma ionização parcial desses grupos. A repulsão entre cargas mantém as partículas dispersas no meio reacional e o diâmetro hidrodinâmico dessas partículas dependerá do pH do meio reacional e a da concentração de grupos ionizáveis.

A polimerização por precipitação inicia-se a partir de uma mistura homogênea de monômeros, iniciador e solvente. No início da polimerização, após a ativação do iniciador (temperatura, luz, etc...), os radicais primários geram os primeiros oligômeros (oligorradicais) na fase aquosa através da abertura da dupla ligação dos monômeros, os quais crescem e precipitam (**Figura 2.13**) (ZHANG et al., 2013; HAWKER 1997; DOWNEY et al., 1999). No caso de microgéis e nanogéis compostos por macrocadeias sensíveis à temperatura, como a PNVCL, a síntese pode ser realizada em meio aquoso, a uma temperatura acima da LCST do polímero. Isso é necessário para que ocorra a precipitação das macrocadeias, uma vez que a PNVCL é solúvel em água, quando a temperatura do meio é inferior à LCST (CORTEZ-LEMOIS; LICEA-CLAVERIE, 2015; LIU et al., 2014). Nesse caso, a adição do agente de reticulação contribui para que as cadeias precipitadas não sejam solubilizadas pela água quando a temperatura do sistema diminuir após a síntese, mantendo a estrutura tridimensional das partículas de hidrogel e a sua dispersão no meio reacional (DOWNEY et al., 1999). Como já visto em trabalhos relatados anteriormente, a NVCL também pode ser copolimerizada com comonômeros iônicos, contribuindo para a estabilização coloidal das macrocadeias (LIU et al., 2014).

Figura 2.13- Esquema representativo de formação de partículas via polimerização por precipitação. (a) e (b) Etapas de nucleação de partículas, (c) Etapa de crescimento das partículas

Fonte: Adaptado de Zhang et al. (2013).

2.6.3 Incorporação de microgéis e nanogéis em diferentes matrizes poliméricas

É comum que um único material biomédico, sintético ou natural, possa não apresentar todas as características desejadas para a preparação de um sistema de liberação de fármacos eficiente. Quando se pensa em liberação controlada, o fato da concentração do fármaco estar dentro da faixa terapêutica, o material utilizado ter boa biocompatibilidade e/ou biodegradabilidade não são os únicos aspectos que devem ser investigados durante o estudo dos sistemas de liberação de fármacos. O próprio corpo humano pode oferecer condições adversas ao sistema de liberação antes de atingir o seu tecido alvo, comprometendo seu desempenho. No caso da administração oral de medicamentos, a variação do pH ao longo do sistema gastrointestinal pode interferir na eficiência da liberação de fármacos a partir de micro e nanogéis sensíveis ao pH, causando sua aglomeração, e consequentemente, sua difícil redispersão no tecido alvo que seja um ambiente favorável à liberação. Assim, esses sistemas particulados podem ser incorporados em outras matrizes poliméricas, os quais podem exercer um papel de proteção a essas partículas até que atinjam o tecido alvo. Além disso, micro e nanogéis podem ser incorporados ou sintetizados na presença de outras matrizes poliméricas para modificar as propriedades do sistema de liberação, como o pH ideal para liberação ou para melhorar o controle da liberação.

Wilke et al. (2015) sintetizaram partículas de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico) (poli(NVCL-*co*-AI)) via polimerização por precipitação para a encapsulação de óxido de zinco (ZnO), e utilizaram *N,N'*-metileno-*bis*-acrilamida (MBA) como agente reticulante. Essas partículas contendo ZnO encapsulado foram liofilizados e misturados à dispersão de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) para formação de microfibras via eletrofiação (*electrospraying*) (**Figura 2.14**). Os autores evidenciaram que a liberação do ZnO foi controlada devido à sensibilidade à temperatura e ao pH das partículas de poli(NVCL-*co*-AI). Em um meio simulando as condições intestinais (pH 7,5 e 37°C), a ionização dos grupos carboxílicos das unidades de ácido itacônico, comprovada por mobilidade eletroforética, promoveram a repulsão entre as macrocadeias poliméricas, resultando no intumescimento das partículas de poli(NVCL-*co*-AI). Além disso, à temperatura de 37°C houve o favorecimento de interações polímero-polímero e a aproximação entre as macrocadeias de PNVCL. Essa aproximação contribuiu para estimular a difusão das do

ZnO pela estrutura reticulada dos microgéis ionizados. Nesse caso, a PCL, um polímero biocompatível e biodegradável funcionou como uma matriz sólida dispersante para as partículas de poli(NVCL-co-AI) carregadas de ZnO, protegendo-as contra possível agregação e degradação do ZnO em meio ácido.

Figura 2.14- Preparação via eletrofição de microfibras de PCL incorporadas de partículas de poli(NVCL-co-AI) contendo ZnO encapsulado

Fonte: Adaptado de Wilke et al. (2015).

Contri et al. (2014) incorporaram nanopartículas de EUDRAGIT® RS 100, um copolímero de acrilato de etila, metacrilato de metila e éster de ácido metacrílico, carregadas com capsaicinoides, fármaco modelo com ação analgésica, em matriz de quitosana (**Figura 2.15**). Os autores sintetizaram as nanopartículas de EUDRAGIT® RS 100 carregadas de capsaicinoides via emulsão-evaporação de solvente, e em seguida, a suspensão de nanopartículas foi adicionada à solução de quitosana sob agitação, e então foram preparados filmes de quitosana com diferentes concentrações de nanopartículas. A matriz de quitosana foi utilizada para garantir uma melhor dispersão das nanopartículas de EUDRAGIT® RS 100, mucoadesividade e um melhor controle de liberação do fármaco. As ligações hidrogênio, especialmente entre os grupos amino de cadeias de quitosana, causam a sua autorreticulação reversível, a qual é facilmente desfeita em condições apropriadas e não gera resíduos tóxicos, como no caso da reticulação covalente (irreversível). A adição de nanopartículas de EUDRAGIT® RS 100 à matriz de quitosana proporcionou uma diminuição do grau de reticulação da quitosana devido às forças repulsivas entre cadeias catiônicas de quitosana e nanopartículas. Em outras palavras, a adição de nanopartículas causou a diminuição das interações entre cadeias de quitosana, levando a uma mudança de equilíbrio entre interações intra e intermoleculares do sistema. Nas micrografias de microscopia eletrônica de varredura dos filmes de quitosana incorporada de diferentes concentrações de nanopartículas de EUDRAGIT® RS 100, os autores observaram que o aumento da concentração de nanopartículas na matriz de

quitosana resultou na formação de microdomínios, caracterizados pela aglomeração de nanocápsulas. Quando o sistema híbrido foi colocado em meio aquoso, foi observado um aumento da mobilidade das nanopartículas no interior da matriz de quitosana, o que resultou na desagregação dos aglomerados e redispersão das nanopartículas de EUDRAGIT® RS 100 na matriz de quitosana. Os autores concluíram que é possível obter diferentes estruturas desse tipo de sistema de liberação de fármacos a partir do controle da concentração de nanopartículas incorporadas à matriz de quitosana. A necessidade de encapsulação dos capsaicinoides foi justificada pelos possíveis efeitos colaterais como irritabilidade da mucosa gastrointestinal, uma vez que os capsaicinoides são compostos extraídos de várias espécies de pimentas. As nanopartículas de EUDRAGIT® RS 100 podem retardar a liberação dos capsaicinoides na mucosa, diminuindo os efeitos colaterais. Nesse trabalho inicial os autores avaliaram apenas a distribuição das nanopartículas de EUDRAGIT® RS 100 carregadas com capsaicinoides em matrizes de quitosana, como foi comentado, pois essa distribuição pode interferir nos perfis de liberação do fármaco.

Figura 2.15- Estruturas propostas para filmes de quitosana incorporada de nanopartículas de Eudragit RS 100® em função do aumento da concentração de nanopartículas, (a) quitosana, (b) quitosana/NPs (10:3), (c) quitosana/NPs (2:1) e (d) quitosana/NPs (1:1)

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

Jankaew et al. (2015) sintetizaram hidrogéis de carboximetilquitosana (CMQ) enxertados com cadeias sensíveis à temperatura e ao pH de poli(*N*-isopropilacrilamida-*co*-ácido acrílico) (poli(NIPAAm-*co*-AA)). Os hidrogéis foram sintetizados via polimerização radicalar na presença do agente reticulante hexametileno-1,6-di-aminocarboxissulfonato,

visando a liberação controlada de indometacina, um fármaco modelo hidrofóbico. Carboximetilquitosana, previamente sintetizada pelos pesquisadores, foi dissolvida em água deionizada juntamente como o monômero NIPAAm, sob agitação magnética e atmosfera de nitrogênio por 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, o meio reacional foi aquecido a 60°C, adicionado o iniciador persulfato de amônio e o sistema foi mantido sob agitação magnética por 45 minutos. Por último, o ácido acrílico foi adicionado à mistura, a qual foi mantida sob agitação por 4 horas, e então foi adicionado o comonômero reticulante hexametileno-1,6-di-aminocarboxissulfonato à solução de CMQ e monômeros, a qual foi mantida sob agitação por mais 30 minutos. Após o término da reação, a dispersão foi liofilizada para formação de filmes (**Figura 2.16**). A carboximetilquitosana é um derivado da quitosana, a qual passa por um processo de substituição de alguns grupos amino das unidades de glicosamina por grupos carboximetil. Assim, a CMQ é caracterizada como um polieletrólito anfótero, pois apresenta grupos carboxílicos e amino ionizáveis. Durante a síntese do copolímero poli(NIPAAm-co-AA) também foram formados os homopolímeros poli(*N*-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) e poli(ácido acrílico) (PAA), devido à diferença de razão de reatividade entre os monômeros NIPAAm e ácido acrílico. Para a dispersão da indometacina na matriz polimérica, os filmes foram mergulhados em uma dispersão do fármaco em etanol durante dois dias à temperatura ambiente. Os resultados mostraram que o ácido acrílico aumentou a hidrofilicidade do sistema de liberação e isso dificultou a difusão e dispersão da indometacina para a matriz polimérica devido a sua natureza hidrofóbica. Porém a capacidade de intumescimento dos hidrogéis em condições neutra e básica aumentou, devido a presença de numerosos grupos carboxílicos ionizáveis no sistema. Quanto à liberação controlada, os autores adotaram condições de liberação variando o pH e a temperatura, conforme está apresentado na **Tabela 2.3**. As condições 1, 2 e 3 foram utilizadas para avaliar o efeito do pH sobre a liberação do fármaco, enquanto as condições 3, 4 e 5 avaliaram o efeito temperatura.

Figura 2.16- Representação da sensibilidade à temperatura e ao pH de hidrogéis de carboximetilquitosana contendo PAA, PNIPAAm e copolímeros de poli(NIPAAm-co-AA)

CMQ: Carboximetilquitosana (sensível ao pH). PAA: Poli(ácido acrílico) (sensível ao pH). PNIPAAm: poli(*N*-isopropilacrilamida) (sensível à temperatura). Poli(NIPAAm-co-AA): poli(*N*-isopropilacrilamida-co-ácido acrílico) (sensível à temperatura e ao pH).

Fonte: Adaptado de Jankaew et al. (2015).

Tabela 2.3- Condições utilizadas nos testes de liberação de indometacina a partir de matriz de caboximetilquitosana incorporada de copolímeros e homopolímeros sensíveis à temperatura e ao pH após um período de 12 horas

Condição	pH	Temperatura (°C)	Droga liberada pela matriz(%)
1	4,0	25	83
2	7,0	25	65
3	10,0	25	30
4	7,4	10	30
5	7,4	30	65
6	7,4	50	80

Fonte: Baseado em Jankaew et al. (2015).

A **Tabela 2.3** mostra que as maiores quantidades de indometacina foram liberadas nas condições 1 e 6. Nos dois casos, respectivamente, as cadeias de poli(NIPAAm-co-AA) e PAA e as cadeias de PNIPAAm tendem a diminuir de volume, resultando na formação de orifícios na matriz de CMQ, como está representado na **Figura 2.18**. Essas cavidades facilitam a difusão da indometacina pela matriz de CMQ, uma vez que o fármaco está apenas disperso na matriz e não encapsulado pelos copolímeros de poli(NIPAAm-co-AA). Na condição 1, o pH é inferior ao pK_a do ácido acrílico, assim as cadeias de poli(NIPAAm-

co-AA) não estão ionizadas, contribuindo para a manutenção do estado contraído dessas partículas, embora a temperatura de 25°C, abaixo da LCST da PNIPAAm, favoreça a solvatação de suas cadeias pelo meio aquoso e consequentemente o aumento de volume das partículas. Porém esse aumento de volume não foi significativo para impedir a liberação da indometacina. Na condição 6, a temperatura do meio, acima da LCST da PNIPAAm (32°C) favorece as interações hidrofóbicas entre suas macrocadeias e, consequentemente, as partículas de poli(NIPAAm-*co-AA*) diminuem de volume, mesmo que o pH nessa condição seja superior ao pK_a do ácido acrílico, ou seja, mesmo que as cadeias de poli(NIPAAm-*co-AA*) estejam ionizadas e resultem no aumento de volume das partículas. Nesse caso, ao contrário da condição 1, o efeito temperatura foi predominante sobre o efeito pH para estimular a contração das partículas, favorecer a formação dos orifícios na matriz de CMQ e a liberação da indometacina. Também é observado que as condições de liberação 1 e 6 apresentaram percentuais próximos de indometacina liberada, 83% e 80%, respectivamente. Isso pode ser justificado devido ao fato da CMQ possuir grupos amino que são ionizáveis em meio ácido e grupos carboxílicos que são ionizáveis em meio básico, o que facilita a difusão da indometacina nos dois meios. Outro papel importante exercido pela matriz de CMQ é a manutenção da dispersão das partículas poliméricas de poli(NIPAAm-*co-AA*) em meio ácido, uma vez que a não-ionização dos grupos carboxílicos poderia levar à aglomeração de partículas.

Huang et al. (2014) compararam os perfis de liberação controlada de hiclato de doxiciclina, um fármaco antibiótico hidrofílico, a partir de matrizes poliméricas compostas de quitosana e copolímeros termossensíveis de poli(*N*-isopropilacrilamida-*co-N*-metilolacrilamida) (poli(NIPAAm-*co-NMA*)), preparadas de formas diferentes. Para o primeiro tipo de matriz, os autores dissolveram o fármaco em solução de quitosana e adicionaram essa solução à dispersão de poli(*N*-isopropilacrilamida-*co-N*-metilolacrilamida) (quitosana/poli(NIPAAm-*co-NMA*)) em etanol. Os copolímeros de poli(NIPAAm-*co-NMA*) foram previamente sintetizados via polimerização radicalar livre por precipitação, liofilizados e redispersados em etanol. A partir da mistura de polímeros quitosana/poli(NIPAAm-*co-NMA*) contendo fármaco, os pesquisadores produziram microfibras de quitosana/poli(NIPAAm-*co-NMA*) contendo fármaco adsorvido via eletrofiação. Para o segundo tipo de matriz, os autores polimerizaram NIPAAm com o comonômero reticulante *N,N'*-metilenobisacrilamida em meio reacional contendo quitosana, a fim de obter partículas submicrométricas de quitosana contendo macrocadeias

de PNIPAAm (quitosana-PNIPAAm) dispersas em sua matriz. Após a polimerização da NIPAAm, glutaraldeído foi adicionado ao sistema para a reticulação das cadeias de quitosana. Em seguida, o fármaco foi dissolvido na dispersão contendo partículas de quitosana-PNIPAAm objetivando sua adsorção pela matriz polimérica híbrida. A dispersão contendo fármaco foi centrifugada para eliminação de fármaco residual no sobrenadante e liofilizada. As partículas liofilizadas de quitosana-PNIPAAm carregadas de fármaco foram redispersadas em água, e adicionadas à dispersão do copolímero poli(NIPAAm-*co*-NMA) (quitosana-PNIPAAm/poli(NIPAAm-*co*-NMA)), previamente liofilizado e redispersado em etanol. Por último, a mistura de polímeros foi eletrofiada a fim de obter microfibras de poli(NIPAAm-*co*-NMA) incorporadas de partículas submicrométricas de quitosana-PNIPAAm contendo fármaco adsorvido (quitosana-PNIPAAm/poli(NIPAAm-*co*-NMA)).

Os testes de liberação realizado pelos autores mostraram que durante 48 horas de testes, uma maior quantidade de fármaco foi liberada em pH 2 à temperatura de 37°C para as microfibras de quitosana/poli(NIPAAm-*co*-NMA) e em pH 2 a 50°C para as microfibras de quitosana-PNIPAAm/poli(NIPAAm-*co*-NMA). No pH 2 os grupos amino da quitosana estão protonados resultando na repulsão entre as macrocadeias de quitosana, e consequentemente, na difusão e liberação do fármaco. As temperaturas de 37°C e 50°C estão acima da LCST da PNIPAAm (32°C), favorecendo interações hidrofóbicas entre suas macrocadeias, e consequentemente, uma diminuição do seu volume hidrodinâmico. Essa contração das macrocadeias de PNIPAAm impulsiona a saída de água do sistema, o que auxilia na carreação das moléculas de fármaco para o meio de liberação.

Os autores observaram que a preparação da matriz polimérica também influenciou no perfil de liberação do fármaco. As microfibras de quitosana/poli(NIPAAm-*co*-NMA) apresentaram um perfil de liberação menos controlado, ou seja, quase 90% do fármaco disperso na matriz foi liberado após 30 minutos de teste em pH 2,0 a 25°C. Enquanto que as microfibras de quitosana-PNIPAAm/poli(NIPAAm-*co*-NMA), nas mesmas condições, liberaram menos de 50% do fármaco adsorvido após 30 minutos de teste. Isso pode ser explicado em função dos grupos amino da quitosana das microfibras de quitosana/poli(NIPAAm-*co*-NMA) entrarem em contato mais rápido com o meio de liberação, devido ao fato dessas microfibras serem compostas apenas da mistura de polímeros quitosana e poli(NIPAAm-*co*-NMA) contendo fármaco adsorvido na matriz. No caso das microfibras de quitosana-PNIPAAm/poli(NIPAAm-*co*-NMA), a quitosana

encontra-se reticulada, na forma de partículas de quitosana-PNIPAAm e o fármaco está disperso nessa matriz. Portanto, nesse caso, a matriz de poli(NIPAAm-co-NMA) oferece uma resistência maior à difusão do fármaco, comparado à poli(NIPAAm-co-NMA) da matriz de quitosana/poli(NIPAAm-co-NMA), onde as moléculas de fármaco estão dispersas nos na matriz dos dois polímeros (**Figura 2.17**).

Figura 2.17- Representação esquemática de microfibras constituídas por diferentes matrizes poliméricas de quitosana/poli(NIPAAm-co-NMA) e de quitosana-PNIPAAm/poli(NIPAAm-co-NMA), obtidas via eletrofiação para liberação controlada de fármacos

Fonte: Baseado em Huang et al. (2014).

2.6.4 Encapsulação de cetoprofeno

O cetoprofeno (ácido α -(3-benzoilfenil) propiônico) é um anti-inflamatório não esteroideal utilizado em tratamentos de doenças, as quais desencadeiam inflamações principalmente de músculos e de articulações, como por exemplo, osteoartrite, artrite reumatoide, tendinite e bursite. Além disso, o cetoprofeno é utilizado como analgésico, amenizando o desconforto em processos pós-operatórios, dores de cabeça e de dente. O sistema de classificação biofarmacêutica classifica o cetoprofeno como um fármaco de classe II, ou seja, o cetoprofeno apresenta baixa solubilidade em meio aquoso e uma alta permeabilidade relacionada à taxa de massa transferida através da membrana intestinal (HERNANDEZ, 2004; CHAN et al., 2015). Quimicamente o cetoprofeno (**Figura 2.18**) é classificado como um ácido orgânico fraco derivado do ácido propiônico. Seu pK_a em água

é 4,6, possui elevada hidrofobicidade e apresenta ótima dissolução entre pH 6,5 e 7,5. A principal rota de administração do cetoprofeno é via oral na forma de comprimidos, sendo rapidamente absorvido pelo sistema gastrointestinal, especialmente no duodeno (EL-KAMEL et al., 2001). Sua meia vida é curta, ou seja, seu pico plasmático é atingido de 30 minutos a 2 horas após a sua ingestão, podendo alcançar alta concentração plasmática seguida de uma queda brusca a níveis abaixo do efeito terapêutico. A rápida absorção do cetoprofeno devido ao contato direto com a mucosa gastrointestinal e o possível aumento da concentração plasmática, causar a irritabilidade da mucosa gastrointestinal e elevar a concentração do fármaco a níveis tóxicos para o paciente, respectivamente. Portanto é recomendado, que a administração de cetoprofeno seja realizada em múltiplas dosagens. O cetoprofeno também pode ser bem absorvido pelo organismo quando encapsulado ou adsorvido em sistemas de liberação controlada de fármacos. Nesse caso, o pico de concentração plasmática pode ser alcançado em 6 a 7 horas depois da administração, aumentando sua biodisponibilidade e contribuindo para a redução de efeitos colaterais (HERNANDEZ, 2004).

Figura 2.18- Estrutura química do cetoprofeno

Fonte: (CHAN et al., 2015).

Muitos trabalhos na literatura têm reportado a encapsulação de cetoprofeno em partículas poliméricas dispersas em água e sua posterior secagem ou a encapsulação direta por secagem, uma vez que as dispersões líquidas podem apresentar instabilidade durante seu armazenamento (FILIPOV; DIMITRIU; VASILE, 2013; LINS et al., 2014; MAESTRELLI et al., 2015; PRABAHARAN et al., 2008; RICCI et al., 2005; RAULA et al., 2010; SARI et al., 2015; SUGITA et al., 2013; YAMADA; ONICHI; MACHIDA, 2001). As dispersões sólidas podem ser empregadas para melhorar a estabilidade de produtos farmacêuticos, bem como para aumentar a biodisponibilidade e solubilidade de fármacos, principalmente os hidrofóbicos como o cetoprofeno.

2.7 Dispersões sólidas de medicamentos preparadas via secagem por pulverização para liberação de fármacos

O setor biomédico tem mostrado um grande interesse pelas dispersões sólidas para armazenamento de produtos farmacêuticos, devido a sua maior estabilidade comparada às dispersões líquidas. As dispersões líquidas podem apresentar problemas de aglomerações, contaminação microbiana, liberação do fármaco durante o seu armazenamento e fármaco na forma de cristais, os quais são mais difíceis de solubilizar (HAGGAG et al, 2015; GHANEM; BROOKS, 2015). As dispersões sólidas podem prolongar o tempo de armazenamento dos produtos farmacêuticos e serem utilizadas como estratégia para aumentar a solubilidade e biodisponibilidade do fármaco (KECK et al., 2005). Além disso, podem ser associadas a outras estratégias como a redução de tamanho de partículas, formação de sais e de co-cristais, inclusão de complexos como a ciclodextrana e amorfização, as quais também visam ao aumento da biodisponibilidade de fármacos (CHAN et al., 2015). Entre as técnicas disponíveis para a preparação de partículas secas (secagem por pulverização, liofilização, leite fluidizado, fluido supercrítico), a secagem por pulverização é a que mais tem se destacado no desenvolvimento de produtos farmacêuticos. Além de conferir as vantagens das dispersões secas, comparada a outras técnicas de secagem, a secagem por pulverização é um processo barato e simples, que permite um maior controle sobre a morfologia e tamanho de partículas e a utilização de condições mais brandas durante o processo, mantendo a integridade, por exemplo, de compostos sensíveis ao calor e é aplicável a uma diversidade de materiais (ESTEVINHO et al., 2013; NANDIYANTO et al., 2011).

2.7.1 Secagem por pulverização (*spray drying*)

A secagem por pulverização é uma operação unitária utilizada para a produção de partículas em pó a partir da atomização de soluções, emulsões, suspensões, etc, e da evaporação do solvente. Essa tecnologia foi descrita pela primeira vez em 1872 (PERCY, 1872), e desde então, vem sendo constantemente inovada, à configuração dos equipamentos e quanto ao aprofundamento do estudo da fluidodinâmica do processo. Esses

avanços tornaram a técnica versátil e sua aplicação difundiu-se por diversas indústrias do ramo alimentício, químico e farmacêutico (PAUDEL et al., 2013). O processo convencional pode ser dividido em quatro estágios fundamentais: (i) atomização da dispersão de sólidos, (ii) evaporação do solvente, (iii) formação de partículas e (iv) separação e recuperação de partículas em pó. No primeiro estágio uma bomba peristáltica transporta a dispersão ou solução até o bico atomizador (LEE et al., 2011). Existem vários mecanismos de atomização, os quais dependem do tipo de bico atomizador que se diferenciam quanto à energia que é envolvida no processo de atomização: cinética, pressão e centrífuga. No caso da energia cinética, a dispersão é atomizada por um bico pneumático, onde um jato de ar em alta velocidade causa o cisalhamento das camadas de líquidos, formando gotículas maiores. Em seguida, essas gotículas sofrem novo cisalhamento, formando gotículas menores. Já no caso da formação de gotículas por pressão, a dispersão é pressurizada no bico atomizador (bico pressurizador), formando camadas finas de líquido, as quais são separadas devido ao atrito com o ar, e então, as gotículas menores são formadas em um único estágio. Diferentemente, no processo de atomização por força centrífuga, as gotículas são formadas a partir da deformação do fluido causada por um disco rotatório que constitui o bico atomizador (HASHEMINYA; DEHGHANNYA, 2013). A função do bico atomizador é reduzir a dispersão a pequenas gotículas micrométricas, a fim de aumentar a superfície de contato entre a dispersão e o gás quente, facilitando a evaporação do solvente. No segundo estágio, o solvente é evaporado por meio da troca de calor entre gotículas e gás quente, em fluxo concorrente, principalmente, dentro da câmara de atomização (PAUDEL et al., 2013). O fluxo de gás e a temperatura de entrada da dispersão são parâmetros que podem ser controlados durante o processo e vão depender, principalmente, do ponto de ebulição do solvente. Solventes voláteis podem aumentar a eficiência do processo de secagem, favorecendo a formação de um produto em pó mais seco. No terceiro estágio, a transferência de massa na superfície das gotículas é considerada o fator limitante da secagem. Quando a umidade atinge o teor crítico, a estrutura das partículas secas determina a velocidade de secagem durante seu tempo de queda. Nesse momento, a difusão da umidade das partículas se torna o fator limitante da secagem. No quarto e último estágio, as partículas secas mais finas são separadas em um ciclone com formato tangencial por ação da força centrífuga (HASHEMINYA; DEHGHANNYA, 2013).

Quanto ao modo de operação, o pulverizador pode ser operado na configuração de malha aberta (“*open loop*”) ou malha fechada (“*close loop*”). Na primeira configuração, o ar é utilizado como gás de secagem e este não é recirculado na câmara de atomização durante a secagem. Na segunda configuração, nitrogênio ou o gás carbônico podem ser utilizados como gás de secagem e sua recirculação ocorre durante todo o processo. A malha fechada é utilizada em casos de misturas de gases explosivos e de materiais sensíveis ao oxigênio (SOSNIK; SEREMETA, 2015). Quanto ao sentido do fluxo de gás de secagem, este pode ser concorrente, contracorrente ou misto com relação ao sentido do aerossol produzido durante a atomização da dispersão. No fluxo concorrente as gotículas entram em contato com o gás de secagem a uma temperatura mais baixa, evitando a degradação de substâncias sensíveis à temperatura. No fluxo contracorrente, as gotículas são secas em contato com o gás de secagem mais quente, levando ao aumento da eficiência do processo de transferência de calor. No entanto, o fluxo contracorrente limita a secagem de matérias susceptíveis à degradação térmica (PAUDEL et al., 2013).

Apesar de todas as vantagens da secagem por pulverização sobre as demais técnicas utilizadas no preparo de micropartículas secas, os pulverizadores convencionais podem apresentar um baixo rendimento relativo à recuperação do produto seco. Em escala industrial a perda de produto comparada ao volume total de produção é muito pequena, porém se tratando de escala laboratorial, o rendimento não ultrapassa os 70%. Isso constitui uma desvantagem para a produção de fármacos, pois são produtos com elevado custo de produção e que, portanto, são incessantemente estudados em escala laboratorial. O limitado rendimento de recuperação de partículas dos pulverizadores convencionais de escala laboratorial está relacionado à utilização de ciclones no estágio de separação de partículas (ARPAGAUSS et al., 2012). Os ciclones tem se mostrado ineficientes na recuperação de partículas com tamanho inferior a 2 μ m, uma vez que as partículas menores são carregadas pelo gás de exaustão. Na indústria, a utilização de sistemas de filtros pode ajudar na separação das partículas menores, aumentando o seu rendimento de recuperação. Além do baixo rendimento, a farmacologia também busca soluções que possam aumentar a biodisponibilidade dos princípios ativos, como a redução do tamanho de partículas e formulações que melhorem a solubilidade de fármacos hidrofóbicos. Para isso a Büchi® desenvolveu o pulverizador *Nano Spray Dryer B-90* visando o preparo de partículas em escala nano e micrométrica, utilizando pequenas quantidades de material em dispersão, diferenciando-se dos outros pulverizadores convencionais (Mini Spray Dryer B-290, B-191

e B-190), de escala laboratorial também desenvolvidos pela empresa, os quais produzem apenas partículas em escala micrométrica (SOSNIK; SEREMETA, 2015, HAGGAG; FAHEEM, 2015) e precisam de uma quantidade de amostra líquida mínima de 30mL para iniciar a atomização (ARPAGAUS et al., 2012). A produção de partículas em escala nanométrica pelos pulverizadores convencionais é limitada não só por causa da separação ineficiente dos ciclones, como também devido às forças insuficientes (pressão e centrifugação) utilizadas no estágio de atomização da dispersão. No Apêndice A desta dissertação, a **Tabela A.1** mostra as principais diferenças entre os pulverizadores de escala laboratorial das séries “Mini” e “Nano”.

O *Nano Spray Dryer B-90* Buchi® (**Figura 2.19 (a)**) possui quatro inovações que conferem vantagens sobre os modelos de pulverizadores convencionais da série “Mini Spray Dryer”: redução da escala de tamanho das partículas de micro para nanométrica, sistema de atomização ultrassônico, sistema de aquecimento com fluxo de gás laminar e o novo sistema eletrostático para recuperação das partículas. A redução da escala micro para nanométrica aumenta a área superficial das partículas, melhorando a taxa de dissolução de fármacos hidrofóbicos e sua biodisponibilidade (ARPAGAUS et al., 2012). O sistema de atomização ultrassônico (**Figura 2.19 (b)**) é constituído por um cristal piezoelétrico, localizado na cabeça do atomizador (*spray head*), integrado a um bico atomizador (*spray cap*), o qual comporta uma fina membrana de aço inoxidável perfurada no centro. O orifício possui tamanho micrométrico e a Buchi® disponibiliza três diferentes diâmetros (4,0 μm , 5,5 μm ou 7 μm). O funcionamento do atuador piezoelétrico baseia-se na vibração da membrana perfurada, quando esse atuador é ativado a uma frequência ultrassônica de 60 kHz (LEE et al., 2011) . Nesse momento, gotículas de tamanho uniforme são depositadas sobre a membrana, e o movimento vibracional promove a aspersão das gotículas pelo orifício da membrana para dentro da câmara de secagem (BROICHSITTER; STREHLOW; KISSEL, 2015). No sistema de aquecimento, uma espuma de metal porosa e compacta conduz o gás quente para dentro da câmara de secagem num fluxo laminar e numa taxa de aquecimento suave. Embora essas características promovam uma transferência de calor menos eficiente, elas evitam a perda de atividade de materiais sensíveis ao calor (SOSNIK; SEMERATA, 2015).

A última inovação realizada pela Buchi® foi o desenvolvimento de um novo sistema de recuperação de partículas secas (**Figura 2.19 (a)**) que não depende da massa das partículas, como ocorre no sistema convencional composto por ciclones (ARPAGAUS

et al., 2012). Esse novo sistema trata-se de um coletor de partículas eletrostático, o qual consiste em um eletrodo neutro (cátodo) ligado à terra e um cilíndrico coletor de partículas que funciona como ânodo. As partículas secas que caem ao longo da câmara de atomização estão carregadas negativamente e são direcionadas à parede do cilindro coletor através do campo elétrico divergente gerado no centro do cilindro pelo cátodo. O campo elétrico é responsável pela neutralização das cargas das partículas secas, e estas são coletadas com auxílio de uma espátula de borracha (LEE et al., 2011). Essa tecnologia permite a recuperação de partículas com tamanho inferior a $2\ \mu\text{m}$, e um maior rendimento quanto recuperação de partículas, quando comparado ao rendimento de recuperação dos pulverizadores convencionais, a qual varia entre 20 e 70% (SOSNIK; SEMERATA, 2015).

Figura 2.19- Representação esquemática do *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi® (a) e do seu sistema de atomização ultrassônica (b)

Fonte: Adaptado de Lee et al. (2011).

Assim como os pulverizadores convencionais da série “Mini Spray Dryer”, o *Nano Spray Dryer B-90* Büchi® permite o controle da distribuição de tamanho e da morfologia das partículas por meio dos parâmetros de secagem (diâmetro do bico atomizador, fluxo do gás de secagem e temperatura da dispersão de alimentação) e dos parâmetros de formulação (concentração de sólidos e de surfactante, viscosidade, propriedades físico-químicas do solvente) (LEE et al., 2011). Porém pode apresentar algumas limitações quanto ao uso, por ser um equipamento destinado a testes em escala laboratorial e a produtos sensíveis a estresses mecânicos e ao calor. A concentração de sólidos máxima

limita-se a 0,1% m/m e soluções com viscosidade superior a 10 cP são difíceis de atomizar, devido ao fluxo laminar de operação e ao diâmetro micrométrico dos bicos atomizadores (OLIVEIRA et al., 2015). A temperatura de operação máxima de 120°C, embora previna a degradação de materiais sensíveis ao calor, limita o uso de solventes como elevada temperatura de ebulição, o que diminui a eficiência de secagem (ARPAGAUS et al., 2012). Assim como nos pulverizadores convencionais, a adição de surfactantes à dispersão pode ser necessária para minimizar possíveis problemas de aglomeração das partículas secas. Porém alguns surfactantes podem ser tóxicos e são difíceis de ser removidos após a secagem (SCHAFFROTH et al., 2012; HAGGAG; FAHEEM, 2015). Quanto à taxa de alimentação de dispersão ou solução atomizada é de no máximo 200 mL/h, dependendo do bico atomizador e das propriedades da solução de alimentação. Portanto não é esperado que o *Nano Spray Dryer B-90* Buchi® seja adotado em aplicações de larga escala industrial, pois o processo de secagem pode durar horas. Uma possível solução para aumentar a escala de produção seria a utilização de bicos atomizadores múltiplos ou várias unidades de bicos atomizadores (ARPAGAUS et al., 2012).

Muitos trabalhos na literatura tem reportado a utilização do *Nano Spray Dryer B-90* Buchi® para a preparação de matrizes poliméricas para a proteção e liberação de princípios ativos. CERCHIARA et al. (2015) produziram micropartículas de quitosana (massa molar média ($\bar{M}_w$) de 150 kDa, 95% desacetilada) reticulada com tripolifosfato (TPP) para a liberação prolongada via intravenosa de vancomicina, um fármaco susceptível à degradação em meio ácido e à degradação enzimática. A vancomicina é um fármaco de fácil remoção pelo sistema gastrointestinal, pouco permeável no tecido epitelial e utilizada em profilaxias e no tratamento de infecções bacterianas. Os autores prepararam duas formulações de partículas (**Tabela 2.4**) utilizando três diferentes equipamentos de secagem, visando estudar a porcentagem de recuperação de produto, a eficiência de encapsulação de vancomicina, o conteúdo de fármaco carregado e a porcentagem de fármaco liberado em condições gastrointestinais simuladas. Os equipamentos utilizados foram os pulverizadores *Mini Spray Dryer B-191* e *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi® e o liofilizador *Christ Freeze Dryer ALPHA 1-2*. A **Tabela 2.5** mostra um resumo dos resultados obtidos pelos autores, desconsiderando as diferentes concentrações de TPP testadas para a reticulação da quitosana antes do processo de secagem.

Tabela 2.4- Formulações utilizadas para o preparo de micropartículas e nanopartículas de quitosana reticuladas com tripolifosfato (TPP)

Razão molar quitosana: TPP	Formulação
10:1,5	A
8:1,5	B

Fonte: Baseado em Cerchiara et al. (2015).

Tabela 2.5- Diâmetro de partículas, rendimento de recuperação de partículas, eficiência de encapsulação e porcentagem de liberação de vancomicina encapsulada em matrizes de quitosana reticuladas com tripolifosfato, preparadas via secagem por pulverização e liofilização

Equipamento	Formulação	D _p (nm) ¹	RR (%) ¹	EE (%) ¹	DC (%) ¹	Total de Vancomicina liberada em pH 2,0 à 37°C (%) ²	Total de Vancomicina liberada em pH 7,4 à 37°C (%) ²
<i>Mini Spray Dryer B-191</i> Buchi®	A ³	1515,9 ± 75,8	29,9 ± 1,5	12,6 ± 0,6	30,0 ± 1,5	65,0 ± 3,2	56,2 ± 2,9
	B ⁴	1161,4 ± 58,1	24,2 ± 1,2	7,2 ± 0,4	21,0 ± 1,1	29,0 ± 1,7	76,3 ± 3,4
<i>Nano Spray Dryer B-90</i> Buchi®	A	400,0 ± 43,7	30,1 ± 1,5	72,0 ± 3,6	61,1 ± 3,1	34,1 ± 1,6	9,3 ± 0,3
	B	450,9 ± 22,3	26,2 ± 1,3	76,2 ± 0,3	54,8 ± 2,7	4,2 ± 1,0	35,4 ± 1,5
<i>Christ Freeze Dryer ALPHA 1-2</i>	A	189,6 ± 9,5	84,0 ± 4,2	38,4 ± 1,9	91,2 ± 4,6	4,0 ± 0,2	1,2 ± 0,1
	B	203,6 ± 10,2	77,8 ± 3,9	32,3 ± 1,6	87,0 ± 4,4	2,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1

¹D_p= diâmetro médio de partículas, RR= rendimento de recuperação de partículas, EE= eficiência de encapsulação, DC= conteúdo de fármaco carregado. ² Os testes de liberação foram realizados durante 6h em solução tampão de pH 2,0 e pH 7,4, simulando condições gastrointestinais. ³ Razão molar quitosana:TPP (10:1,5). ⁴ Razão molar quitosana:TPP (8:1,5).

Fonte: Adaptado de Cerchiara et al. (2015).

Os resultados da **Tabela 2.5** mostraram que as partículas preparadas utilizando o pulverizadores *Nano Spray Dryer B-90* Buchi® apresentaram menor diâmetro, comparadas às partículas produzidas no pulverizadores *Mini Spray Dryer B-191* Buchi®. Quanto ao rendimento de recuperação de partículas, o rendimento obtido no *Nano Spray Dryer B-90* foi próximo ao rendimento obtido pelo *Mini Spray Dryer B-191*. Com relação ao conteúdo de fármaco carregado nas partículas, o *Nano Spray Dryer B-90* superou a eficiência de encapsulação do *Mini Spray Dryer B-191*. E quanto à liberação de vancomicina, as partículas preparadas no pulverizador *Mini Spray Dryer B-191* liberaram maior percentual de fármaco encapsulado ao longo de 6h de teste, em pH 2,0 e em pH 7,4, independente do teor de TPP, quando comparadas às partículas preparadas no pulverizadores *Nano Spray Dryer B-90* e no liofilizador *Christ Freeze Dryer ALPHA 1-2*. É também observado que a menor concentração de quitosana com relação à massa de TPP na formulação B, facilitou a liberação de vancomicina em pH 7,4, uma vez que a quitosana é insolúvel nesse pH, devido à desprotonação dos seus grupos amino.

2.7.2 Mecanismo de formação de partículas via secagem por pulverização

Geralmente as partículas preparadas via secagem por pulverização são esféricas e seu tamanho pode ser descrito pelo diâmetro geométrico. O desempenho do pulverizadores influencia diretamente no tamanho de partículas secas, e o sucesso na obtenção de partículas com as características desejadas envolve o entendimento e o controle dos mecanismos que determinam a distribuição radial dos componentes (sólidos e solvente), causada pelo transporte de difusão durante o processo de secagem. A evaporação das gotículas envolve as transferências de calor e de massa, durante as quais, ocorre uma diferença entre a pressão de vapor do solvente e a sua pressão parcial na fase gasosa. A taxa de evaporação é determinada pelo balanço de massa da energia necessária para evaporar o solvente e a energia transferida para a superfície da gotícula (ALI et al., 2014). Resumidamente, como não há um processo de convecção no interior das gotículas, sua evaporação pode ser descrita por uma equação de difusão não-linear, a qual segue a segunda Lei de Fick (equação (1)), considerando que as gotículas evaporam a uma taxa constante de evaporação (κ). A Equação (1), juntamente com outro conjunto de equações, não mostradas neste trabalho, pode ser utilizada para estimar o tempo de secagem da gota. Esse intervalo de tempo deve ser menor que o tempo de residência das gotículas na câmara de secagem, o qual compreende o intervalo de tempo desde a formação das gotículas no atomizador até a sua deposição no sistema de recuperação de partículas secas (ciclone ou cilindro coletor). Na Equação (1), d refere-se ao diâmetro da partícula seca, d_0 ao diâmetro inicial da gotícula, κ é a constante de evaporação do solvente e t é o tempo de secagem da gotícula, o qual depende das características da amostra e das configurações do pulverizador (VEHRING, 2007).

$$d^2(t) = d_0^2 - \kappa t \quad (1)$$

Durante a evaporação do solvente, a área superficial das gotículas diminui e a concentração de sólidos aumenta até que atinja concentração crítica, caracterizada por uma saturação de sólidos (precipitação). Vários autores salientam a utilização da relação entre a taxa de evaporação das gotículas e o movimento de difusão do soluto, chamada de número adimensional de Péclet (Pe), para explicar os dois mecanismos de formação de partículas via secagem por pulverização mais explorados pela literatura, os quais estão representados

esquemáticamente na **Figura 2.20**. Quando $Pe < 1$, a taxa de difusão do soluto é maior do que a taxa de evaporação das gotículas, então a área superficial das gotas diminuem, os sólidos migram para o centro das gotículas até atingir o nível máximo de saturação, formando partículas compactas e sólidas (monolíticas). Porém quando $Pe > 1$, a evaporação das gotículas é predominante, ocorrendo uma precipitação de sólidos na superfície das gotículas (casca), formando partículas ocas, leves, porosas ou com cavidades (VEHRING, 2007).

Figura 2.20- Mecanismo geral de formação de micro e nanopartículas monolíticas e ocas preparadas via secagem por pulverização

Fonte: Adaptado de Nandyanto et al. (2011) e Vehring (2007).

Nandyanto et al. (2011) pesquisaram sobre o controle da morfologia de micro e nanopartículas preparadas via secagem por atomização e confirmaram que a chave do sucesso está na otimização dos parâmetros de processo. Os autores detalharam quatro formatos que podem ser obtidos para partículas preparadas via secagem por pulverização: esférico monolítico, esférico oco, rosca e esférico com porosidades. Além disso, descreveram que para cada formato pode ocorrer variações morfológicas que dependerão dos parâmetros de atomização e das características das dispersões líquidas. A **Tabela 2.6** mostra essas possíveis morfologias de partículas preparadas via secagem por atomização, suas principais características e como podem ser obtidas. A geometria esférica é a forma mais estável para as partículas preparadas via secagem por pulverização, sendo por essa razão a mais comumente obtida nesse processo. As partículas esféricas monolíticas, segundo os autores, geralmente são obtidas a partir de coloides, soluções poliméricas e dispersões de nanopartículas. Enquanto a mudança de parâmetros, relacionados à taxa de transferência de calor e massa referente ao processo de secagem das gotículas, pode

resultar em partículas esféricas ocas, como já foi explicado anteriormente. Porém o tamanho inicial e a proporção entre diferentes sólidos presentes na dispersão, podem produzir partículas esféricas com diferentes texturas e com diferentes distribuições dos materiais na partícula. A atomização de dispersões, as quais contêm nanopartículas sintetizadas previamente podem resultar na autoagregação dessas nanopartículas, formando micropartículas compactas e com formato esférico. A rugosidade das micropartículas dependerá do tamanho das nanopartículas contidas na dispersão, geralmente, quanto maior o tamanho dessas nanopartículas, maior sua rugosidade. Quando as dispersões são compostas por mais de um tipo de soluto, a proporção em massa entre esses materiais pode influenciar na sua distribuição na matriz sólida. Esses sistemas são conhecidos como partículas compósitas ou híbridas, enquanto um dos componentes atua como material principal, o outro atua como um material de suporte (matriz). A partir da dispersão contendo todos esses materiais, as partículas secas podem apresentar uma boa distribuição dos componentes, microencapsulação do material principal pelo material de suporte ou ainda podem ser um híbrido de materiais. No caso de componentes bem distribuídos e de microencapsulação do material principal, a morfologia das partículas pode ser controlada alterando a fração mássica dos componentes da dispersão. Quando as concentrações dos componentes são iguais, é possível obter partículas secas com uma boa distribuição de componentes, porém quando as frações são diferentes, geralmente ocorre a microencapsulação.

Tabela 2.6- Principais morfologias obtidas para partículas preparadas via secagem por pulverização e suas principais características

Nº	Morfologia de partículas	Características
1	Monolítica	-Partícula compacta formada por apenas um tipo de componente. Podem ser obtidas a partir de colóides, dispersões ou soluções. -Elevada taxa de difusão do soluto ($Pe < 1$)
2	Baixa rugosidade	-Partículas formadas por apenas um tipo de componente, geralmente dispersão de nanopartículas com tamanho inferior a 100 nm. -Autoagregação de nanopartículas -Caracterizam-se por apresentar pequenas rugosidades na sua superfície.
3	Elevada rugosidade	-Partículas formadas por apenas um tipo de componente, geralmente dispersão de nanopartículas com tamanho superior a 100 nm. -Autoagregação de nanopartículas -Caracterizam-se por apresentar elevada rugosidade de superfície.
4	Porosa	-Partículas obtidas a partir da combinação da técnica de secagem por pulverização com a utilização de um modelo para a produção dos poros. -O componente modelo é eliminado durante o processo de secagem.
5	Oca	-Partículas formadas por apenas um tipo de componente. -Taxa de evaporação de solvente elevada ($Pe > 1$)
6	Rosca	- Partículas obtidas a partir do ajuste de propriedades físico-químicas das gotículas. -Alterações na hidrodinâmica e na estabilidade estrutural das gotículas.
7	Cápsula	-Compósito formado a partir de dois ou mais componentes de mesmo tamanho e/ou com proporções em massa diferentes
8	Mista	-Compósito formado a partir de dois ou mais componentes de mesmo tamanho e geralmente com a mesma proporção

Fonte: Adaptado de Nandiyanto et al. (2011).

Quanto ao tamanho das partículas secas, a concentração de sólidos da dispersão pode ou não exercer grande influência sobre o seu tamanho, independente da sua morfologia. Para dispersões menos concentradas a espessura da camada de saturação, a qual se forma na superfície das gotas durante a secagem, será determinante no tamanho das partículas secas. Na medida em que a concentração de sólidos aumenta na superfície da gota, o tamanho das partículas secas também aumenta devido a maior área de saturação formada sobre as gotículas em evaporação. A evaporação do solvente, nesse caso, definirá os aspectos morfológicos das partículas e a concentração de sólidos influenciará no

tamanho das partículas. Portanto essas características morfológicas dependerão da solubilidade do material na superfície das gotas, ou seja, dependerão se o material está disperso ou em solução (VICENTE et al., 2013; VEHRING, 2007). Em contrapartida, o efeito da evaporação do solvente na morfologia de partículas não é tão expressivo para dispersões poliméricas mais concentradas, acima de 5% m/m, uma vez que a quantidade de solvente evaporada da gota é menor. Nesse caso, a malha utilizada na atomização das gotas será o fator mais importante no controle de tamanho de partículas. Logo, é observado que no processo de secagem por pulverização a atomização e a evaporação do solvente influenciarão nas propriedades das partículas como aerodinâmica, compressibilidade e dispersibilidade do pó. Consequentemente, essas propriedades exercerão um efeito direto sobre a taxa de dissolução do fármaco no seu tecido alvo de absorção (VICENTE et al., 2013).

O processo de evaporação das gotas pode ser complexo, considerando o uso de uma infinidade de materiais com diferentes propriedades físico-químicas para a preparação de dispersões em pó. Assim, alguns eventos podem ocorrer durante a secagem, como a não cristalização imediata de alguns componentes quando o limite de solubilidade é atingido na superfície das partículas, a nucleação de cristais, o crescimento de cristais e transições polimórficas. No caso de componentes que não cristalizam imediatamente durante o tempo de secagem, o produto em pó poderá conter uma mistura de componentes na forma cristalina e amorfa (VEHRING, 2007; ALI et al., 2014; PAUDEL et al., 2013). Obviamente, o mecanismo de formação de partículas, como apresentado na Figura 2.20, pode variar de acordo com as propriedades térmicas, físico-químicas e fluidodinâmicas da amostra, e também quando outros componentes que alteram a tensão superficial são adicionados à amostra líquida, como surfactantes (ALI et al., 2014).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Os monômeros utilizados nas sínteses dos nanogéis foram a *N*-vinilcaprolactama (NVCL, 99%, fornecida pela Basf-Brasil), purificada por destilação à vácuo a 120°C, o ácido itacônico (AI, 99%, Sigma Aldrich) e o dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA, 99%, Sigma Aldrich), utilizados como recebidos. O iniciador térmico persulfato de potássio (KPS, 99%, LabSynth), o sal bicarbonato de sódio (NaHCO₃, 99,9%, LabSynth) e o fármaco cetoprofeno (99%, gentilmente cedido pela Sanofi-Brasil), também foram utilizados como adquiridos. A quitosana (Cheng Yue Planting Co Ltd, China, grau de desacetilação de 95%, $\bar{M}_v = 85$ kDa) foi doada pelo Instituto de Química da USP de São Carlos (IQSC/USP) e a purificação foi realizada seguindo a metodologia proposta por Santos, Bukzem e Campana-Filho (2016). Toda a água utilizada nos experimentos foi ultrapura. A **Figura 3.1** apresenta as estruturas químicas dos monômeros NVCL, AI, EGDMA e do biopolímero quitosana utilizados na síntese das partículas de nanogel de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e no preparo das micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis.

Figura 3.1- Estruturas químicas dos monômeros NVCL, AI, EGDMA e da quitosana utilizados nas sínteses das partículas de nanogel de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e no preparo das micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis

NVCL: N-vinilcaprolactama. AI: ácido itacônico. EGDMA: dimetacrilato de etilenoglicol.

Fonte: Próprio autor.

3.2 Métodos

A **Figura 3.2** mostra um fluxograma resumido sobre as etapas realizadas para a preparação das micropartículas híbridas em pó de quitosana incorporada de partículas de nanogel de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol) (poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)) contendo cetoprofeno encapsulado e quais caracterizações foram realizadas a cada etapa do trabalho.

Figura 3.2-Fluxograma com as etapas da metodologia utilizada para a preparação de micropartículas híbridas em pó de quitosana incorporada de partículas de (poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)) contendo cetoprofeno encapsulado

Fonte: Próprio autor.

3.2.1 Síntese de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e encapsulação de cetoprofeno

Os nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol) (poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)) foram sintetizados utilizando a polimerização por precipitação via mecanismo radical livre convencional, em processo semibatelada. Inicialmente o agente reticulante EGDMA foi solubilizado em 100 mL de água, e em seguida foram adicionados 2g de NVCL e a mistura foi mantida sob agitação (250 rpm) por 1h. Para a síntese de nanogéis contendo cetoprofeno encapsulado, o fármaco foi adicionado 15 minutos após a adição do monômero NVCL, e então a mistura foi mantida sob agitação magnética (250 rpm) por mais 45 minutos. Após uma hora, 30 mL de solução com diferentes concentrações de ácido itacônico foram adicionados à mistura anterior e o pH da mistura final foi ajustado para 4,5 utilizando bicarbonato de cálcio (NaHCO₃).

A mistura final foi vertida em um balão de fundo redondo e mantida sob agitação magnética (200 rpm) à temperatura ambiente e sob atmosfera de nitrogênio por 15 minutos. Paralelamente, foram adicionados 50 mL de água em um reator encamisado com capacidade para 200 mL, também mantido sob atmosfera de nitrogênio à temperatura ambiente. Após 15 minutos, o iniciador térmico persulfato de potássio (KPS), previamente solubilizado em 10 mL de água, foi transferido para o balão contendo os monômeros (e fármaco), o qual foi mantido por mais 10 minutos sob atmosfera de nitrogênio à temperatura ambiente. A temperatura do banho de aquecimento foi ajustada para 70°C e após a estabilização da temperatura do reator encamisado, 1/3 da mistura de reagentes foi transferida para o mesmo. Em seguida, o reator foi alimentado com o restante da mistura com auxílio de uma bomba peristáltica ajustada a uma vazão de alimentação de 1,333 mL.min⁻¹. As reações de polimerização foram conduzidas durante 5h, e após o término das reações, os nanogéis sem cetoprofeno foram purificados por diálise em água deionizada por 5 dias, à temperatura ambiente, utilizando uma membrana SERVAPOR® MWCO 12000 – 14000 com diâmetro de corte de 25Å. A fim de evitar qualquer liberação de cetoprofeno durante a diálise, os nanogéis com cetoprofeno foram purificados por ultracentrifugação (26000 rpm, 1h), seguida de redispersão em um banho de ultrassom por 1h. Logo após a ultracentrifugação, o sobrenadante foi removido, confirmado o conteúdo

de fármaco não encapsulado por espectrofotometria UV-visível e seu volume foi repostado com solução tampão pH 4,5, o mesmo pH do meio reacional. Após a ultrassonicação, uma amostra de nanogéis redispersada em solução tampão pH 4,5 foi novamente centrifugada, e analisado o conteúdo de cetoprofeno no sobrenadante por espectrofotometria UV-visível, para confirmar que não houve liberação do fármaco durante a purificação. As purificações dos nanogéis foram realizadas objetivando a eliminação de monômeros residuais e de cristais de cetoprofeno não encapsulados. Todos os procedimentos de caracterização e a incorporação dos nanogéis na matriz de quitosana foram realizados a partir do uso de nanogéis purificados. Para caracterizações de amostras secas, os nanogéis foram centrifugados a 26000 rpm, a 20°C, durante 1h. O sobrenadante foi removido e o precipitado foi seco em estufa com circulação forçada de ar, a 30°C, por 3 dias. A **Figura 3.3** apresenta a rota sintética empregada na síntese dos nanogéis.

Figura 3.3- Rota sintética empregada na síntese dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)

Fonte: Próprio autor.

A **Tabela 3.1** apresenta as formulações utilizadas na síntese dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno (R1 a R8) e com cetoprofeno (R50 e R51), variando a concentração de monômeros e de iniciador. As sínteses dos nanogéis R1 e R8 foram realizadas em triplicata e as demais sínteses foram realizadas em duplicata. Após o estudo sobre a influência da variação da concentração de monômeros e de iniciador no diâmetro hidrodinâmico e sensibilidade à temperatura e ao pH das partículas de nanogéis, as formulações R1 e R8 foram escolhidas para a encapsulação de cetoprofeno a partir das respectivas reações de mesma formulação, R51 e R50.

Tabela 3.1- Formulações utilizadas nas sínteses dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno e contendo cetoprofeno via polimerização por precipitação

Reações	NVCL (g)	AI (%)*	EGDMA (%)*	KPS (%)*	Cetoprofeno (%)*
R1	2	3	3	1	0
R2	2	6	3	1	0
R3	2	9	3	1	0
R4	2	3	6	1	0
R5	2	3	2	1	0
R6	2	3	3	1,5	0
R7	2	3	3	2	0
R8	2	4,5	2	1	0
R50	2	4,5	2	1	1,25
R51	2	3	3	1	1,25

*Todas as porcentagens foram calculadas com relação à massa de monômero NVCL.

Fonte: Próprio autor.

3.2.2 Preparação de micropartículas de quitosana via secagem por pulverização

As micropartículas de quitosana foram preparadas para serem utilizadas como controle com relação às micropartículas de quitosana incorporadas de partículas de nanogel de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno. A quitosana utilizada nas sínteses foi purificada conforme a metodologia proposta por Santos, Bukzem e Campana-Filho (2016): -3g de quitosana foram dissolvidos em 1 litro de solução de ácido acético, 1% v/v, e mantida sob agitação (300 rpm) durante 24h. A solução foi filtrada em filtro de polipropileno seguido de filtração em filtro de placa porosa de porcelana (0,45µm). Após a filtração, a quitosana foi neutralizada com solução de NaOH (1M) e deixada em repouso até a sua completa precipitação. O precipitado foi separado do sobrenadante e lavado com misturas de etanol/água, contendo (75%, 80% e 90% de etanol e finalmente em etanol absoluto)-. Após a lavagem, a torta do filtro (quitosana), foi seca em estufa de circulação forçada de ar a 30°C, durante 7 dias, triturada e peneirada.

Para a preparação de micropartículas de quitosana, inicialmente 50 mg de quitosana purificada são dissolvidos em 100 mL de solução de ácido acético (0,05% v/v) e mantidos sob agitação (300 rpm), à temperatura ambiente por 2h. Em seguida o pH da solução de quitosana é ajustado para 4,5, utilizando solução de NaOH (1,0 M), e a solução final é mantida em agitação (200 rpm) por mais 1h. Após esse período, a solução de quitosana é

pulverizada no pulverizador *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi® (**Figura 3.4**). Os parâmetros utilizados para a pulverização da solução de quitosana estão apresentados na **Tabela 3.2**. No final do processo de pulverização, as micropartículas de quitosana pura em pó foram coletadas no cilindro coletor eletrostático com auxílio de uma espátula de borracha.

Figura 3.4- Câmara de atomização e pulverização, bico atomizador e painel de controle do *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi®

Câmara de atomização e
pulverização

Bico atomizador

Painel de controle

Fonte: Próprio autor.

Tabela 3.2- Parâmetros utilizados na pulverização da solução de quitosana para a obtenção de micropartículas de quitosana pura de micropartículas híbridas de quitosana incorporada de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado

Temperatura de atomização	Velocidade de bombeamento	Taxa de aspersão	Diâmetro do bico atomizador	Fluxo de gás
120°C	3	100%	7µm	132 L/min

Fonte: Próprio autor.

3.2.3 Preparação de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno via secagem por pulverização

O procedimento de preparação das micropartículas híbridas, compostas de quitosana e de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno (quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno) foi realizado em duas etapas. Primeiro utilizou-se a técnica de gelificação iônica para a incorporação dos nanogéis contendo cetoprofeno, na matriz de quitosana. Nessa técnica, conforme esquematizado na **Figura 3.5**, o pH da dispersão de nanogéis e da solução de quitosana são ajustados igualmente a um pH que proporcione a ionização dos dois polímeros para que os mesmos possam interagir eletrostaticamente, garantindo uma melhor dispersão dos nanogéis na matriz de quitosana (FAN et al., 2012). O pH escolhido para a mistura dos polímeros foi o pH 4,5, o mesmo pH da dispersão dos nanogéis, uma vez que abaixo desse pH os nanogéis podem apresentar instabilidade coloidal e acima desse pH podem liberar o cetoprofeno encapsulado durante o procedimento de atomização. Após o ajuste do pH, a dispersão de nanogéis foi gotejada na solução de quitosana sob agitação magnética (500 rpm) com auxílio de uma bomba peristáltica a uma taxa de $0,3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, e então a mistura foi mantida sob agitação magnética a 300 rpm por 2h e em seguida foi pulverizada. A mistura de quitosana e nanogéis foi realizada a partir de duas proporções em massa dos polímeros, conforme apresentado na **Tabela 3.3**. Para obtenção do teor de sólidos da dispersão de nanogéis, esta foi previamente centrifugada (26000 rpm; 1h) e o precipitado foi seco e pesado, e finalmente foi estabelecida uma razão entre massa de polímero e volume de dispersão. Esse procedimento foi realizado para cada hidrogel sintetizado.

Figura 3.5- Representação esquemática do processo de gelificação iônica de quitosana com nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) em pH 4,5

Fonte: Próprio autor.

Tabela 3.3- Razões em massa de quitosana e de nanogéis utilizadas na preparação de partículas híbridas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno via secagem por pulverização

Amostra	Amostra de nanogel (b)	% Nanogel (c)
Q95	Nenhum	0
Q95 ^a R50 ^b -40% ^c	R50	40
Q95 ^a R50 ^b -70% ^c	R50	70
Q95 ^a R51 ^b -40% ^c	R51	40
Q95 ^a R51 ^b -70% ^c	R51	70

Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 e R51 nanogéis sintetizados com 4,5% e 3% de AI; 2% e 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL, respectivamente. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana.

Fonte: Próprio autor.

A segunda etapa do processo de preparação das micropartículas híbridas consistiu no procedimento de pulverização. Os parâmetros utilizados no procedimento de pulverização para preparação de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis foram os mesmos descritos na **Tabela 3.2**, utilizados na preparação de micropartículas de quitosana pura. O diferencial nesta etapa foi que a mistura de polímeros foi mantida em banho de gelo durante a sua atomização para evitar a liberação precoce de cetoprofeno

durante o procedimento. Durante a pulverização, a mistura é aquecida e parte é atomizada e outra parte retorna ao recipiente (refluxo) a uma temperatura acima da temperatura inicial da mistura em banho de gelo. Uma vez que os nanogéis são termossensíveis, estes podem liberar uma fração do fármaco durante o procedimento de atomização, se a mistura não é resfriada imediatamente após o retorno ao recipiente.

3.3 Caracterização dos materiais

3.3.1 Diâmetro hidrodinâmico médio (D_h)

O diâmetro hidrodinâmico médio (D_h) das partículas de nanogel de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) foi medido por espalhamento de luz, à temperatura ambiente, utilizando o equipamento ZetaSizer Nano ZS,- da MALVERN instruments® (LabPol-DEQUI/EEL/USP). Foram realizadas 3 medidas para cada amostra e adotou-se a média aritmética como o diâmetro hidrodinâmico médio das partículas de nanogéis.

3.3.2 Sensibilidade ao pH e à temperatura

Os estudos de sensibilidade ao pH e à temperatura das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) também foram realizados através da técnica de espalhamento de luz, assim como foram realizadas as medidas do diâmetro hidrodinâmico médio dos nanogéis. Para estudar a sensibilidade ao pH, foram realizadas medidas dos diâmetros hidrodinâmicos dos nanogéis em soluções tampão com diferentes valores de pH, variando de 1,2 a 12, à temperatura ambiente. A fim de estudar a sensibilidade à temperatura, foram realizadas medidas dos diâmetros hidrodinâmicos dos nanogéis em solução tampão com pH 7,4 variando a temperatura entre 20°C a 70°C, com intervalo de 2°C, e um tempo de estabilização de 300 segundos a cada intervalo. O pH 7,4 foi escolhido para avaliar a sensibilidade à temperatura das partículas de nanogéis e foram realizadas 3 medidas para cada amostra, adotando-se a média aritmética como o diâmetro

hidrodinâmico médio das partículas. Os valores de diâmetro hidrodinâmico também foram obtidos pela função de correlação $G(\tau)$, apresentada na Equação (2).

3.3.3 Potencial Zeta (ζ)

A densidade de cargas na superfície, ou seja, o potencial eletrostático das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e das micropartículas de quitosana pura e de quitosana incorporadas de nanogéis com cetoprofeno foi medida por análise de potencial zeta utilizando o equipamento ZetaSizer Nano ZS-, da MALVERN instruments® (LabPol-DEQUI/EEL/USP). As medidas foram realizadas em triplicata.

3.3.4 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A composição química dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), das micropartículas de quitosana e de quitosana incorporada de nanogéis com cetoprofeno foram avaliadas qualitativamente por espectroscopia de infravermelho (FTIR). As amostras secas foram embutidas em pastilhas de KBr e analisadas em um espectrômetro de infravermelho da marca Shimadzu®, modelo IR Prestige-21, localizado no Departamento de Biotecnologia da EEL-USP (DEBIQ/EEL/USP).

3.3.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As propriedades térmicas do cetoprofeno puro, das partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) e das micropartículas de quitosana pura e de quitosana incorporadas de nanogéis com cetoprofeno foram avaliadas pela técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC) em um calorímetro de marca TA instruments®, modelo Q20 (LabPol-DEQUI/EEL/USP). Para o preparo das amostras foram utilizadas porta amostras de alumínio herméticos contendo aproximadamente 6 mg de amostra seca. As condições adotadas para todas as análises foram: faixa de temperatura de -40°C a 175°C, taxa de aquecimento de 20°C.min⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹. O resfriamento durante as análises foi realizado com adição de nitrogênio líquido com auxílio de um “*Quench cooler*”. Para todas as amostras, exceto de cetoprofeno puro, foram realizadas duas corridas a fim de retirar possível umidade das amostras e os dados foram analisados utilizando o software TA Universal Analysis 2000-TA Instruments®. A temperatura de transição vítrea (T_g) foi calculada a partir do prolongamento de três tangentes sobre a região de descontinuidade máxima das curvas (ponto de inflexão). Esse método para cálculo da T_g foi escolhido uma vez que as regiões onde ocorreram as transições térmicas de segunda ordem dos materiais não estavam bem definidas.

3.3.6 Difração de Raios X

Para determinar a cristalinidade do cetoprofeno, das partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) puros e contendo cetoprofeno encapsulado, das micropartículas de quitosana e das micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis contendo cetoprofeno, foi utilizado o difratômetro de raio-X, marca Shimadzu®, modelo LabX XRD 6000, locado no Departamento de Engenharia de Materiais da EEL/USP (DEMAR/ELL/USP). O difratômetro foi operado com feixe de radiação monocromática MoK α ($\lambda = 0,7110 \text{ \AA}$), intervalos angulares de 4° a 40°, passo angular de 0,05° e tempo de contagem de 2 segundos.

3.3.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das micropartículas de quitosana pura e de quitosana incorporadas de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) com cetoprofeno foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um microscópio eletrônico da HITACHI®, modelo TM 3000 (DEMAR/EEL/USP). As amostras foram previamente metalizadas com uma fina camada de ouro e durante as análises utilizou-se uma tensão de aceleração de 15kV.

3.3.8 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A caracterização morfológica das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem e contendo cetoprofeno foi realizada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) utilizando um microscópio da marca Philips®, modelo CM120, operado com uma tensão de aceleração de 80 kV, localizado no “*Centre Technologique des Microstructures (CTμ)*” da Universidade Claude Bernard Lyon 1, em Villeurbanne – França, e outro microscópio da marca Philips®, modelo Tecnai 10, operado com tensões de aceleração de 60 kV e 80 kV, locado Faculdade de Medicina da USP (FMUSP). Para preparação das amostras, uma gota de dispersão de nanogéis é diluída em 10 mL de água, e em seguida uma gota dessa diluição é depositada sobre uma grade de cobre, recoberta com filme de carbono amorfo. Após 2 minutos, o excesso de amostra foi retirado da grade e a secagem foi realizada à temperatura ambiente. As amostras de nanogéis com cetoprofeno foram analisadas sem purificação para observação de cristais de cetoprofeno não encapsulados.

3.3.9 Determinação da eficiência de encapsulação de cetoprofeno nas partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA)

A porcentagem de cetoprofeno encapsulado durante a síntese dos nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) foi determinada utilizando um espectrofotômetro de radiação UV visível da marca Thermo Electron Corporation®, modelo Genesys 10UV (LabPol-DEQUI/EEL/USP). Primeiro foi construída uma curva de calibração de cetoprofeno em água, meio utilizado nas sínteses dos nanogéis, por regressão linear seguindo a Lei de Beer-Lambert (**Figura 3.6**). Em seguida, 4 mL da dispersão dos nanogéis contendo cetoprofeno foi centrifugada a 26000 rpm e a 20°C por 1h. O sobrenadante foi removido e analisado no espectrofotômetro calibrado utilizando um comprimento de onda (λ) para o cetoprofeno de 260 nm.

Figura 3.6- Curva de calibração do cetoprofeno em água obtida por espectrofotometria de radiação UV visível

Fonte: Próprio autor.

A **Figura 3.6** mostra a equação obtida a partir da regressão linear realizada a partir das concentrações de cetoprofeno em água e suas respectivas absorbâncias. Essa equação foi utilizada para obter a concentração final de cetoprofeno no sobrenadante após a centrifugação da dispersão de nanogéis (Equação (2)). A partir dessa concentração, calculou-se a massa de cetoprofeno não encapsulado contido no volume total da dispersão de nanogéis (190 g), e então foi obtida a eficiência de encapsulação (EE) pela Equação (3).

$$A = 63,99C + 0,0061 \quad (2)$$

Onde,

A= Absorbância;

C= Concentração de cetoprofeno ($\text{mg}_{\text{cetoprofeno}}/\text{g}_{\text{água}}$);

$$EE(\%) = \frac{M_{cf} - M_{cs}}{M_{cf}} \times 100 \quad (3)$$

Onde,

EE = Eficiência de encapsulação (%);

M_{cf} = Massa inicial de cetoprofeno utilizada na formulação para a síntese dos nanogéis;

M_{cs} = Massa de cetoprofeno no sobrenadante;

3.3.10 Determinação da eficiência de recuperação das micropartículas secas por pulverização

A eficiência de recuperação (ER) das micropartículas de quitosana pura e de micropartículas de quitosana, incorporadas de partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado foi calculada a partir da razão entre a massa de micropartículas em pó recuperadas no cilindro coletor após a pulverização e a massa total de partículas contendo fármaco encapsulado na dispersão inicial. A fórmula utilizada para calcular a eficiência de recuperação está apresentada na Equação (4).

$$ER(\%) = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \quad (4)$$

Onde,

ER = Eficiência de recuperação das micropartículas (%);

M_f = Massa de micropartículas secas (mg);

M_i = Massa total de partículas contendo fármaco encapsulado na dispersão inicial (mg)

3.3.11 Ensaios de liberação *in vitro* do cetoprofeno

A cinética de liberação *in vitro* do cetoprofeno a partir de partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) e de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis contendo cetoprofeno encapsulado foi avaliada em quatro diferentes condições experimentais (**Tabela 3.4**). As condições de pH testadas objetivaram simular o meio gastrointestinal, sendo os meios de teste preparados a partir de solução tampão. As temperaturas de 25°C e 37°C foram testadas para avaliar a influência da sensibilidade à temperatura dos nanogéis na liberação de cetoprofeno.

Tabela 3.4- Condições experimentais para a avaliação da cinética de liberação *in vitro* de cetoprofeno

pH	Temperatura (°C)
1,2	25
1,2	37
7,4	25
7,4	37

Fonte: Próprio autor.

Para a realização ensaios de liberação, 28mg de amostra seca foram redispersados em 4 mL de solução tampão e a dispersão resultante foi vertida em uma membrana de diálise da marca SERVAPOR[®], MWCO 12000 – 14000 com diâmetro de corte de 25Å. A membrana foi mergulhada em um reator contendo 146 mL solução tampão com pH e temperatura ajustados de acordo com as condições testadas, totalizando um volume de 150 mL. O meio de liberação foi mantido sob agitação magnética de 200 rpm e o tempo total de duração para cada ensaio foi de 48h. As concentrações de cetoprofeno foram medidas por espectrofotometria de UV utilizando um comprimento de onda de 260 nm para o cetoprofeno e curvas de calibração do fármaco em pH 1,2 e 7,4, as quais estão apresentadas nas **Figuras 3.7 e 3.8**, respectivamente, seguindo a Lei de Beer-Lambert. As alíquotas foram retiradas nos seguintes intervalos de tempo: 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 150, 180, 210, 240, 300, 360, 600, 840, 1440, 1800, 2880 e 3120 minutos. Após a sua retirada, as alíquotas foram devolvidas ao reator para garantir a manutenção do volume do meio e evitar erros durante a medição de concentração de cetoprofeno. O reator também foi mantido vedado durante todo o tempo de ensaio a fim de evitar possível alteração de volume a partir da evaporação do meio de liberação. Todos os ensaios de liberação foram

realizados em triplicata, e a concentração de cetoprofeno e o erro, em cada intervalo de tempo, foram calculados a partir da média aritmética dos pontos e do desvio padrão.

As Equações (5) e (6) foram obtidas por regressão linear, assim como a curva de calibração de cetoprofeno em água, a partir dos dados de concentrações conhecidas de cetoprofeno em solução tampão de pH 1,2 e pH 7,4 e suas respectivas absorbâncias.

Figura 3.7- Curva de calibração do cetoprofeno em solução tampão de pH 1,2 obtida por espectrofotometria de radiação UV visível

Fonte: Próprio autor.

$$A = 68,364C - 0,0124 \quad (5)$$

Onde,

A = Absorbância;

C = Concentração de cetoprofeno ($\text{mg}_{\text{cetoprofeno}}/\text{g}_{\text{tampão pH 1,2}}$)

Figura 3.8- Curva de calibração do cetoprofeno em solução tampão de pH 7,4 obtida por espectrofotometria de radiação UV visível

Fonte: Próprio autor.

$$A = 63,66C - 0,0112 \quad (6)$$

Onde,

A = Absorbância;

C = Concentração de cetoprofeno (mg_{cetoprofeno}/g_{tampão pH 7,4})

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) via polimerização por precipitação

Nesta sessão está descrita a preparação das partículas de nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol) (poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)), sensíveis ao pH e à temperatura, via polimerização por precipitação. A sensibilidade à temperatura e ao pH dessas partículas foi estudada em função da variação de parâmetros de síntese, como a concentração de ácido itacônico (AI), do agente reticulante dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA) e do iniciador persulfato de potássio (KPS). Ainda nesta sessão, são apresentados os resultados de encapsulação do cetoprofeno, e os estudos sobre sua liberação *in vitro* a partir dos nanogéis em condições fisiológicas gastrointestinais simuladas.

4.1.1 Síntese de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) via polimerização por precipitação e estudo da sensibilidade à temperatura e ao pH

Os nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol) (poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)) foram sintetizados via polimerização por precipitação, sem utilização de surfactante. O diâmetro hidrodinâmico e a sensibilidade à temperatura e ao pH das partículas dos nanogéis foram estudados em função da variação de parâmetros de síntese, como a concentração de ácido itacônico (AI), do agente reticulante dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA) e do iniciador persulfato de potássio (KPS) a fim de avaliar as melhores condições de processo para a síntese de nanogéis estáveis, com sensibilidade à temperatura e ao pH e com diâmetros hidrodinâmicos distintos.

A **Tabela 3.1** apresenta as formulações utilizadas nas sínteses dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA). Todas as reações foram realizadas em meio tamponado (pH 4,5) com bicarbonato de sódio. O ajuste do pH da reação para 4,5 favoreceu a

ionização parcial dos grupos carboxílicos das unidades de ácido itacônico, uma vez que esse pH é superior a um dos pK_a 's do ácido ($pK_a^1 = 3,85$ e $pK_a^2 = 5,45$). A repulsão eletrostática entre os grupos carboxílicos ionizados presentes na superfície das partículas e auxiliaram na estabilidade coloidal dos nanogéis. Medeiros et al. (2010) em um estudo sobre estabilidade de nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido acrílico) sintetizados via polimerização por precipitação, constataram que o pH do meio reacional influenciou na estabilidade dos nanogéis. A reação tamponada em pH 5,0, acima do pK_a do ácido acrílico ($pK_a = 4,2$), resultou na formação de partículas com estabilidade coloidal e menor polidispersidade. Imaz e Forcada (2011) também sintetizaram nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido acrílico) e verificaram a influência do pH do meio na estabilização coloidal das partículas. As autoras reforçaram que a razão de reatividade do comonômero ácido em relação à NVCL pode variar em função do seu grau de ionização. No final desta dissertação, a Tabela B.1 do apêndice B mostra a estabilidade coloidal para os nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido acrílico) após o período de 1 ano de armazenamento.

4.1.2 Influência da concentração do ácido itacônico (AI)

Para o estudo da influência da concentração de ácido itacônico, foram sintetizados nanogéis com 3, 6 e 9% de AI em relação à massa de NVCL (-amostras R1, R2 e R3, respectivamente). As concentrações dos outros reagentes, EGDMA e KPS, foram mantidas constantes e iguais a 3% e 1%, respectivamente.

A **Tabela 4.1** apresenta os diâmetros hidrodinâmicos (D_h) obtidos para as partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), sintetizadas com diferentes concentrações de ácido itacônico. É observado que o aumento da concentração do comonômero ácido na carga inicial de monômeros causou a diminuição do diâmetro hidrodinâmico dos nanogéis, assim como o índice de polidispersidade (PDI). Conforme mencionado anteriormente, não foi utilizado nenhum surfactante nas sínteses dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA). Assim, a ionização parcial dos grupos carboxílicos do ácido itacônico foi essencial na redução do diâmetro hidrodinâmico das partículas e na estabilidade coloidal das dispersões de nanogéis. As cargas desses grupos aniônicos tendem a se distribuir

preferencialmente na superfície dos nanogéis, devido à maior interação dos grupos ($-\text{COO}^-$) com os prótons (H^+) do meio aquoso (BERA et al., 2015). A estabilidade coloidal dessas micropartículas é garantida por meio da repulsão eletrostática entre grupos carboxílicos ionizados. Portanto, uma maior concentração de ácido itacônico na carga inicial de monômeros pode favorecer uma maior quantidade de grupos carboxílicos na superfície dos nanogéis. Consequentemente os nanogéis sintetizados com maior quantidade de ácido itacônico apresentarão uma maior densidade de cargas negativas em sua superfície, o que é corroborado pelos resultados de potencial zeta (**Figura 4.1 (b)**), os quais serão discutidos adiante. O menor diâmetro hidrodinâmico desses nanogéis pode ser justificado pela maior eficiência de nucleação, ou seja, o aumento da concentração de comonômero ácido aumenta o número de partículas que são nucleadas, resultando na precipitação de partículas com menor diâmetro hidrodinâmico (BERGER et al, 2010).

A escolha do valor de pH 4,5 para o meio reacional pode ser justificada pela ionização parcial dos grupos carboxílicos do ácido itacônico, os quais, uma vez na ausência de surfactantes, auxiliarão na estabilização coloidal do sistema através da repulsão eletrostática entre nanopartículas. Embora o ácido itacônico possua um segundo pK_a acima do valor de pH escolhido para o meio reacional ($pK_a^2 = 5,45$), um aumento do grau de ionização poderia dificultar a copolimerização com a NVCL devido ao aumento de solubilidade do comonômero ácido em água (IMAZ; FORCADA, 2011).

Tabela 4.1- Diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de AI (3, 6 e 9%, m/m, com relação à massa de NVCL)

Reações	AI (%)	D_h (nm)	PDI*
R1	3	190,6	0,025
R2	6	161,3	0,054
R3	9	137,6	0,018

*PDI: Índice de Polidispersidade

Fonte: Próprio autor.

A **Figura 4.1** mostra a variação do diâmetro hidrodinâmico em função do pH do meio (**Figura 4.1 (a)**) e do potencial zeta (**Figura 4.1 (b)**) das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de AI. É observado nas **Figura 4.1 (a)** e **Figura 4.1 (b)** um aumento do diâmetro hidrodinâmico dos nanogéis para valores de pH menores que o pH 4,5 acompanhado de uma diminuição, em módulo, do potencial zeta, respectivamente. Para valores de pH maiores que o pH 4,5, é observado um aumento do diâmetro hidrodinâmico das partículas, acompanhado de um aumento do potencial zeta, em módulo.

Figura 4.1- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) (a) e potencial zeta (b) em função do pH para partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), sintetizados com diferentes concentrações de AI (3, 6 e 9%, m/m, de AI com relação à massa de NVCL)

Fonte: Próprio autor.

A **Figura 4.1 (a)** mostra que para os valores de pH 1,2 e 3,0 todos os nanogéis, R1, R2 e R3, apresentam um diâmetro hidrodinâmico superior a 900 nm, indicando que houve aglomeração das nanopartículas. Essa aglomeração é confirmada pelos resultados de potencial zeta (**Figura 4.1 (b)**), os quais apresentaram valores próximos a 0 mV para os valores de pH 1,2 e 3,0, e pode ser justificada pela não ionização dos grupos carboxílicos do ácido itacônico nesse pH.

Para o valor de pH igual ao pH do meio reacional, isto é, pH 4,5, o diâmetro hidrodinâmico dos nanogéis não se alterou. Comparando os valores de potencial zeta dos nanogéis sintetizados com diferentes concentrações de ácido itacônico nesse pH, o potencial zeta foi maior, em módulo, quanto maior foi a concentração de ácido itacônico

utilizada na formulação dos nanogéis. Isso reforça a hipótese de que nanogéis sintetizados com maior concentração de ácido itacônico apresentam uma maior densidade de cargas negativas, devido a maior distribuição de grupos carboxílicos ionizados na sua superfície.

Para os valores de pH 6,0 ao pH 10, o diâmetro hidrodinâmico de todos os nanogéis aumentou devido ao aumento do grau de ionização dos grupos carboxílicos do ácido itacônico. Porém é observado que não houve aumento do potencial zeta, em módulo, ao aumentar o pH do meio. Uma possível hipótese para explicar esse resultado é que, a maioria dos grupos carboxílicos ionizados está aparentemente distribuída na superfície dos nanogéis, em contato com o meio aquoso, devido a sua afinidade com o meio. Outros grupos carboxílicos, ionizados ou não, podem estar distribuídos no interior da estrutura reticulada dos nanogéis, o que pode influenciar nos resultados de potencial zeta. O potencial zeta fornece apenas a diferença de potencial elétrico entre a camada compacta das partículas, uma região interna que contém íons fortemente ligados a sua superfície, e a camada de difusão, uma região externa onde a distribuição de íons é determinada pelo equilíbrio entre forças eletrostáticas do meio (MOSSEUAU et al., 2016; SCHAFFAZICK et al., 2013; NÄGELE 1985).

Os contraíons (Na^+ e H^+) presentes nas soluções tampão podem blindar eletrostaticamente parte das cargas negativas da superfície dos nanogéis, resultando na diminuição do potencial zeta em módulo. Esse efeito depende da força iônica do meio, ou seja, da quantidade de contraíons no meio. Como já explicado, o intumescimento dos nanogéis sensíveis ao pH é controlado pela diferença de pressão osmótica entre o interior das partículas e o meio circundante, neste caso água. A pressão osmótica varia em função do pH do solvente. Com o aumento do pH, as moléculas de água entram no interior da estrutura tridimensional causando o intumescimento dos nanogéis, e consequentemente, o aumento do diâmetro hidrodinâmico das partículas. O aumento de contraíons leva ao aumento da força iônica do meio, consequentemente a maior quantidade de contraíons interagem eletrostaticamente com os grupos carboxílicos ionizados e a repulsão entre esses grupos diminui. Isso gera uma pressão osmótica em sentido contrário, ocasionando uma redução no volume dos nanogéis, como é observado nos valores de pH acima de 10. Acima do pH 10 também pode ser notado um aumento do potencial zeta, em módulo, o qual pode ter sido influenciado pela força iônica do meio (PIKAEBA; RAMOS; FORCADA, 2014; KARG et al., 2008; CHATERJI; KNOW; PARK, 2007).

A **Figura 4.2** mostra o efeito da temperatura em pH 7,4 no diâmetro hidrodinâmico das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de ácido itacônico (3, 6 e 9% de AI em relação à massa de NVCL, R1, R2 e R3, respectivamente). Os resultados mostraram que os três nanogéis, R1, R2 e R3, apresentam sensibilidade à temperatura devido à diminuição do diâmetro hidrodinâmico com o aumento da temperatura. A elevação da temperatura causou um desequilíbrio entre o balanço de interações hidrofóbicas e hidrofílicas do sistema, resultando no aumento do número de interações hidrofóbicas (polímero-polímero) com relação às interações hidrofílicas (polímero-água), levando à redução de volume dos nanogéis (CORTEZ-LEMOES; LICEA CLAVERIE 2016).

Figura 4.2- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) em função da temperatura e em pH 7,4 para partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de AI (3, 6 e 9%, m/m, de AI com relação à massa de NVCL)

Fonte: Próprio autor.

É notável que as micropartículas sintetizadas com maior concentração de ácido itacônico apresentaram uma redução de volume menor com o aumento de temperatura, evidenciando que o efeito do pH prevalece sobre o efeito da temperatura. Isso ocorre porque uma maior quantidade de grupos carboxílicos ionizados pode dificultar a contração dos nanogéis com aumento de temperatura. Em outras palavras, a força de repulsão entre os grupos carboxílicos ionizados prevalecem sobre as interações polímero-polímero. Como já era esperado, não foi possível observar a LCST dos nanogéis R1, R2 e R3, o que pode

estar relacionado à incorporação de ácido itacônico às cadeias de PNVCL, favorecendo a retenção de moléculas de água entre as macrocadeias. Resultados semelhantes foram obtidos por Imaz e Forcada (2011) e Medeiros et al. (2015). Em estudos de NVCL copolimerizada com ácido acrílico e ácido itacônico realizado por Medeiros et al. (2015), os autores compararam a influência da incorporação dos comonômeros ácido acrílico e ácido itacônico às cadeias de NVCL na sensibilidade à temperatura de partículas de nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico) e de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido acrílico). Os autores explicaram que devido a maior quantidade de interações hidrofílicas entre unidades de ácido itacônico e moléculas de água comparado ao ácido acrílico, a LCST das partículas de nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico) não pode ser observada no gráfico de sensibilidade à temperatura.

4.1.3 Influência da concentração do agente reticulante dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA)

Para o estudo da influência da concentração de EGDMA, foram sintetizados nanogéis com 2, 3 e 6% de EGDMA com relação à massa de NVCL, amostras R4, R1 e R5, respectivamente. As concentrações dos outros reagentes, AI e KPS, foram mantidas constantes e iguais a 3% e 1%, respectivamente.

A **Tabela 4.2** apresenta os diâmetros hidrodinâmicos (D_h) obtidos para as partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), sintetizadas com diferentes concentrações de EGDMA. Os nanogéis sintetizados com menor concentração de agente reticulante apresentaram diâmetro hidrodinâmico menor, levando à hipótese de que houve maior incorporação de monômeros ácido itacônico às cadeias precursoras, levando à precipitação de cadeias menores (IMAZ; FORCADA 2011). A provável diferença entre as razões de reatividade dos monômeros NVCL/EGDMA/AI pode justificar essa hipótese. Se o agente reticulante (EGDMA) é mais reativo, é consumido preferencialmente no início da polimerização e reticula rapidamente as cadeias de PNVCL, as quais perdem solubilidade e precipitam antes de serem estabilizadas pela incorporação das unidades de ácido itacônico, resultando na precipitação de partículas com maior diâmetro hidrodinâmico (PIKAEBA; RAMOS; FORCADA, 2014; WAN et al., 2014). Essa desestabilização coloidal das

partículas é confirmada pela elevada polidispersidade do nanogel sintetizado com 6% (m/m) de EGDMA, com relação à massa de NVCL (amostra R5).

Tabela 4.2- Diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de EGDMA (2, 3 e 6%, m/m, com relação à massa de NVCL)

Reações	EGDMA (%)	D_h (nm)	PDI*
R4	2	159,2	0,025
R1	3	190,6	0,025
R5	6	219,3	0,175

*PDI: Índice de Polidispersidade

Fonte: Próprio autor.

A **Figura 4.3** mostra a variação do diâmetro hidrodinâmico (**Figura 4.3 (a)**) e do potencial zeta (**Figura 4.3 (b)**) de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de EGDMA em função do pH do meio. Na **Figura 4.3 (a)**, assim como foi observado para a **Figura 4.2(a)**, para valores de pH menores que o pH 4,5, as micropartículas aglomeram-se e o potencial zeta (**Figura 4.3(b)**) é próximo de 0 mV para todas as amostras. Como já explicado anteriormente, esse efeito ocorre devido a não-ionização dos grupos carboxílicos, o que leva à desestabilização coloidal das partículas. Os nanogéis sintetizados com 6% de EGDMA com relação à massa de NVCL (R5), apresentaram menor sensibilidade ao pH do que os nanogéis sintetizados com menor concentração de EGDMA, R4 e R1. Isso pode ser justificado pelo fato da maior incorporação de EGDMA às cadeias de PNVCL, resultarem em uma maior reticulação dos nanogéis, o que limita a sua capacidade de intumescimento com o aumento do pH do meio. Ainda é possível notar o efeito de blindagem de cargas sobre todos os nanogéis acima do pH 10. Com relação ao potencial zeta (**Figura 4.3(b)**) no pH 4,5, pH do meio reacional, é observado que quanto maior a concentração de EGDMA, menor foi o potencial zeta em módulo, caracterizando uma menor densidade de carga por área de superfície da partícula. Isso reforça a hipótese de que o aumento da concentração de EGDMA na carga inicial de monômeros resulta em sua rápida incorporação às cadeias de PNVCL, e consequentemente, sua precipitação antes que sejam estabilizadas pela incorporação do comonômero ácido itacônico (PIKAEBA; RAMOS; FORCADA, 2014; WAN et al., 2014).

Figura 4.3- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) de partículas (a) e potencial zeta (b) em função do pH, para partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de EGDMA (2, 3 e 6%, m/m, de EGDMA com relação à massa de NVCL)

Fonte: Próprio autor.

A **Figura 4.4** mostra o efeito da temperatura em pH 7,4 no diâmetro hidrodinâmico das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de EGDMA (2, 3 e 6% de EGDMA em relação à massa de NVCL, R4, R1 e R5, respectivamente). É observado que os nanogéis sintetizados com 2% e 3% de EGDMA com relação à massa de NVCL, R4 e R1 respectivamente, apresentaram sensibilidade à temperatura. O diâmetro hidrodinâmico dessas partículas diminuiu com o aumento da temperatura devido ao favorecimento das interações hidrofóbicas entre as macrocadeias, como já explicado. O nanogel obtido na reação R5 apresentou uma menor sensibilidade à temperatura, ou seja, apresentaram menor capacidade de contração com o aumento da temperatura, devido ao maior grau de reticulação resultante da maior concentração de EGDMA na carga inicial de monômeros.

Figura 4.4- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) em função da temperatura e em pH 7,4 para as partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com diferentes concentrações de EGDMA (2, 3 e 6%, m/m, de EGDMA com relação à massa de NVCL)

Fonte: próprio autor.

4.1.4 Influência da concentração de iniciador persulfato de potássio (KPS)

Para o estudo da influência da concentração de KPS, foram sintetizados nanogéis com 1, 1,5 e 2%,m/m, de KPS com relação à massa de NVCL amostras R1, R6 e R7, respectivamente. As concentrações dos outros reagentes, EGDMA e AI, foram mantidas constantes e iguais a 3% para ambos.

A **Tabela 4.3** apresenta os diâmetros hidrodinâmicos (D_h) obtidos para as partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), sintetizadas com diferentes concentrações de KPS. O aumento de 1% para 1,5% na concentração de KPS, com relação à massa de NVCL resultou em uma diminuição do diâmetro hidrodinâmico dos nanogéis. Isso pode ser explicado pelo fato do aumento da concentração de iniciador proporcionar uma maior quantidade de radicais livres para polimerização, aumentando a eficiência de nucleação, o que conseqüentemente gera muitas partículas, as quais serão menores. Entretanto, ao aumentar a concentração de KPS para 2%, o diâmetro hidrodinâmico e a polidispersidade aumentaram. Nesse caso, o aumento da eficiência de nucleação levou à diminuição da densidade de cargas (grupos carboxílicos) na superfície das partículas, resultando em sua

heterocoagulação a fim de que as mesmas atinjam a estabilidade por meio do aumento da densidade de cargas na superfície (MACKOVÁ; HORAK, 2006)

Tabela 4.3- Diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de KPS (1, 1,5 e 2%, m/m, com relação à massa de NVCL)

Reações	KPS (%)	D_h (nm)	PDI*
R1	1	190,6	0,025
R6	1,5	151,6	0,076
R7	2	300,0	0,210

*PDI: Índice de Polidispersidade

Fonte: Próprio autor.

A **Figura 4.5** mostra a variação do diâmetro hidrodinâmico (**Figura 4.5 (a)**) e do potencial zeta (**Figura 4.5 (b)**) das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de KPS, em função do pH do meio.

Figura 4.5- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) (a) e potencial zeta (b) em função do pH, para partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de KPS (1, 1,5 e 2%, m/m, de KPS com relação à massa de NVCL)

Fonte: Próprio autor.

É observado na **Figura 4.5 (a)** que todas as amostras de nanogéis, R1, R6 e R7, apresentaram sensibilidade ao pH. Para valores de pH inferiores ao pH 4,5, houve a aglomeração dos nanogéis caracterizada pelo aumento do seu diâmetro hidrodinâmico, acompanhado da diminuição do potencial zeta, em módulo **Figura 4.5 (b)**. Aumentando-se o pH de 4,5, o qual é o pH do meio reacional, até o pH 10, todos os três nanogéis apresentaram aumento do diâmetro hidrodinâmico de partícula, devido à repulsão entre os

grupos carboxílicos ionizados. Era esperado que para maiores concentrações de KPS, houvesse uma maior concentração de grupos sulfato ionizados, provenientes da decomposição do iniciador, na superfície das partículas dos nanogéis. Isso poderia explicar uma maior estabilidade dos nanogéis, mesmo para valores de pH inferiores ao pK_a^I do ácido itacônico ($pK_a^I = 3,85$), ou seja, com os grupos carboxílicos não-ionizados. Porém os resultados mostraram que para valores de pH inferiores ao pK_a^I do ácido itacônico, o nanogel com partículas de menor diâmetro hidrodinâmico (amostra R6) foi o que apresentou menor estabilidade, ou seja, uma maior intensidade de aglomeração.

Os resultados de potencial zeta apresentados na **Figura 4.5 (b)** mostram que para valores abaixo do pH do meio reacional, isto é, pH 4,5, os nanogéis apresentaram um potencial zeta próximo a 0 mV, o que confirma a aglomeração de partículas observada nos resultados apresentados na **Figura 4.5 (a)**.

No pH 4,5 (pH do meio reacional), o nanogel sintetizado com 1% de KPS com relação à massa de NVCL (amostra R1), apresentou maior potencial zeta, em módulo, do que o nanogel sintetizado com 1,5% de KPS (amostra R6). Isso sugere que a densidade de cargas das partículas pode estar variando em função do seu diâmetro hidrodinâmico, do número de partículas e ainda em função da partição dos grupos carboxílicos do ácido itacônico distribuídos na superfície e no interior das partículas. O aumento da concentração de KPS leva ao aumento da eficiência de nucleação, gerando um maior número de partículas com menor diâmetro e com menos unidades de ácido itacônico incorporadas as suas cadeias. Além disso, pode ser sugerido que o aumento da concentração de KPS tenha um efeito na incorporação de unidades de ácido itacônico às cadeias de PNVCL e consequentemente na distribuição dos grupos carboxílicos entre a superfície e o interior das partículas dos nanogéis. Essa hipótese associada a menor reatividade do comonômero ácido itacônico, com relação aos monômeros NVCL e EGDMA, pode ter diminuído a sua incorporação às cadeias de PNVCL, a qual já era limitada. Assim, as cadeias de PNVCL também podem ter sido rapidamente estabilizadas pelos grupos sulfato ionizados, provenientes da decomposição do KPS, como foi mencionado anteriormente.

Aumentando-se a concentração de KPS para 2% em relação à massa de NVCL, é observado que o potencial zeta aumenta, em módulo. Isso pode estar relacionado à heterocoagulação de partículas para atingirem a estabilidade, o que pode levar a formação

de partículas maiores e com maior densidade de cargas na superfície (MACKOVÁ; HORAK, 2006; IMAZ; FORCADA, 2011).

A **Figura 4.6** mostra o efeito da temperatura em pH 7,4 no diâmetro hidrodinâmico das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de KPS (1, 1,5 e 2% de KPS em relação à massa de NVCL, R1, R6 e R7, respectivamente). Os resultados mostram que os nanogéis são termossensíveis e os perfis das curvas de sensibilidade à temperatura são similares. Isso indica que embora a variação concentração de KPS tenha influenciado no diâmetro hidrodinâmico das partículas, não teve efeito na termossensibilidade dos nanogéis.

Figura 4.6- Variação do diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) em função da temperatura e em pH 7,4 para partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com diferentes concentrações de KPS (1, 1,5 e 2%, m/m, de KPS com relação à massa de NVCL)

Fonte: Próprio autor.

4.1.5 Influência da variação da concentração de ácido itacônico (AI) e de dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA)

Para o estudo da influência simultânea da concentração de AI e EGDMA, foram sintetizados nanogéis com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL.

A **Tabela 4.4** apresenta o diâmetros hidrodinâmico (D_h) obtido para as partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), sintetizadas com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL. O aumento da concentração de ácido itacônico contribuiu para a redução do diâmetro hidrodinâmico das partículas, uma vez que uma maior eficiência de nucleação, leva ao aumento do número de partículas que são nucleadas, resultando na precipitação de partículas com menor diâmetro hidrodinâmico (BERGER et al, 2010).

A diminuição da concentração de EGDMA na carga inicial de monômeros também contribui para a precipitação de cadeias menores. Se o EGDMA possui maior reatividade em relação aos monômeros NVCL e ácido itacônico, e se sua concentração na carga inicial é menor, a sua copolimerização com NVCL não resultará na precipitação rápida das cadeias de PNVCL, as quais poderão ser estabilizadas pelas unidades do comonômero ácido itacônico, supostamente de menor reatividade entre os três monômeros. Assim ocorrerá a precipitação de cadeias menores de PNVCL (IMAZ; FORCADA, 2011; PIKAEBA; RAMOS; FORCADA, 2014). A variação simultânea desses dois parâmetros resultou na formação de nanogéis com estabilidade coloidal, confirmada pelo valor do índice de polidispersidade.

Tabela 4.4- Diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS, m/m, com relação à massa de NVCL

Reação	AI (%)	EGDMA (%)	KPS (%)	D_h (nm)	PDI*
P8	4,5	2	1	122,8	0,018

*Índice de Polidispersidade

Fonte: Próprio autor.

A **Figura 4.7** mostra a variação do diâmetro hidrodinâmico (**Figura 4.7 (a)**) e do potencial zeta (**Figura 4.7 (b)**) das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL (amostra R8), em função do pH do meio. Os resultados mostram que as partículas da amostra R8 também apresentaram sensibilidade ao pH com perfil de curva similar ao das outras amostras de nanogéis. Para valores de pH inferiores ao pH do meio reacional, isto é, pH 4,5, os nanogéis aglomeram-se devido à não-ionização dos grupos carboxílicos. Nessa mesma faixa de pH, o gráfico de potencial zeta (**Figura 4.7 (b)**) confirma esse resultado, mostrando que para valores de pH inferiores ao pH 4,5, o valor da

densidade de cargas superficiais foi positivo ou quase nulo. Acima do pH 4,5, o diâmetro hidrodinâmico das partículas aumentou devido à repulsão entre os grupos carboxílicos ionizados e o efeito de blindagem de cargas é evidenciado pelo aumento da densidade de cargas negativas a partir do pH 8 (**Figura 4.7 (a)**).

Também pode ser observado na **Figura 4.7(b)** que os nanogéis da amostra R8 apresentaram uma menor densidade de cargas negativas na superfície entre o pH 6,0 e pH 12, assim como também foi observado nas outras amostras de nanogéis. Como já discutido, o potencial zeta mede apenas a diferença de potencial elétrico entre: a camada compacta das partículas, uma região interna que contém íons fortemente ligados a sua superfície, e a camada de difusão, uma região externa onde a distribuição de íons é determinada pelo equilíbrio entre forças eletrostáticas do meio (SCHAFFAZICK et al., 2003; NÄGELE, 1985). Assim, é esperado que, embora o pH do meio induza a ionização dos grupos carboxílicos do ácido itacônico, o potencial zeta medirá a densidade de cargas apenas na superfície das partículas.

Figura 4.7- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) (a) e potencial zeta (b) em função do pH, para partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) sintetizadas com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS, m/m, com relação à massa de NVCL

Fonte: Próprio autor.

A **Figura 4.8** mostra o efeito da temperatura em pH 7,4 no diâmetro hidrodinâmico das partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) sintetizadas com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS em relação à massa de NVCL (amostra R8). É observado que os nanogéis da amostra R8 apresentaram sensibilidade à temperatura, uma vez que o diâmetro hidrodinâmico também diminuiu com aumento da temperatura. O perfil

da curva de sensibilidade à temperatura é semelhante ao perfil da curva de sensibilidade à temperatura obtida para as outras amostras de nanogéis (Figura 4.8).

Figura 4.8- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) em função da temperatura e em pH 7,4 para partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS, m/m, com relação à massa de NVCL

Fonte: Próprio autor.

4.2 Encapsulação de cetoprofeno em partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)

Os critérios utilizados para a escolha de duas formulações de nanogéis para a encapsulação e liberação de cetoprofeno, além da sensibilidade à temperatura e ao pH, foram uma reduzida polidispersidade, o que indica que as partículas possuem uma estabilidade coloidal e uma distribuição de diâmetro hidrodinâmico monomodal, e o tamanho das partículas. Considerando essa última característica, foram escolhidas formulações de nanogéis com diâmetros hidrodinâmicos distintos para avaliar diferenças na capacidade de encapsulação dessas partículas e no perfil de liberação de cetoprofeno encapsulado (GU et al., 2015; CHAN et al., 2015). Os nanogéis escolhidos para a encapsulação do cetoprofeno foram as formulações R1 e R8, que apresentaram partículas com diâmetros hidrodinâmicos médios de 190,6 nm e 122,8 nm, respectivamente.

4.2.1 Caracterizações das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado

A **Tabela 4.5** mostra as formulações utilizadas na síntese de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (reações R50 e R51), os respectivos diâmetros hidrodinâmicos de partícula. É observado que os valores de diâmetros hidrodinâmicos dos nanogéis R50 e R51, não diferem significativamente do diâmetro hidrodinâmico dos nanogéis sintetizados com a mesma formulação, R8 e R1, respectivamente, porém sem cetoprofeno. Isso poderia ser explicado pela baixa concentração de cetoprofeno utilizada nas sínteses dos nanogéis R50 e R51 e a sua menor eficiência de encapsulação. A escolha da utilização de uma baixa concentração de cetoprofeno na síntese dos nanogéis R50 e R51 é justificada pela baixa solubilidade do fármaco em água (meio reacional), o que pode ocasionar a formação de cristais de cetoprofeno dispersos no meio reacional.

Tabela 4.5- Formulação e diâmetro hidrodinâmico (D_h) das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado

Reação	AI (%)	EGDMA (%)	KPS (%)	cetoprofeno (%)	D_h (nm)	PDI ¹
R1	3	3	1	0	190,6	0,025
R51	3	3	1	1,25	185,9	0,027
R8	4,5	2	1	0	122,8	0,018
R50	4,5	2	1	1,25	120,6	0,014

Todas as porcentagens foram calculadas com relação à massa de monômero NVCL. ¹Índice de Polidispersidade.

Fonte: Próprio autor.

A **Figura 4.9** mostra a variação do diâmetro hidrodinâmico (**Figuras 4.9 (a1) e (a2)**) e do potencial zeta (**Figura 4.9 (b1) e (b2)**) das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) carregados com cetoprofeno (reações R50 e R51) em função do pH do meio. Nas **Figuras 4.9 (a1) e (b1)** é observado que ambos nanogéis contendo cetoprofeno, R50 e R51, apresentaram menor sensibilidade ao pH, comparados aos nanogéis sintetizados com a mesma formulação, porém sem cetoprofeno, amostras de nanogéis R8 e R1, respectivamente. Isso pode ser explicado devido à interação de cetoprofeno com as cadeias hidrofóbicas de PNVCL copolimerizadas com EGDMA. Para que os nanogéis intumescam, as forças repulsivas entre grupos carboxílicos devem prevalecer sobre essas interações entre moléculas de cetoprofeno e as cadeias de PNVCL e entre cadeias de PNVCL, principalmente. Além disso, a presença das moléculas de

cetoprofeno encapsuladas pode dificultar a solvatação das macrocadeias pelas moléculas de água. Assim os nanogéis R50 e R51 podem apresentar menor sensibilidade ao pH, como mostram os resultados. Os resultados de potencial zeta apresentados nas **Figuras 4.9 (a2) e (b2)** mostram que o cetoprofeno encapsulado pode ter interferido na variação da densidade de cargas na superfície dos nanogéis R50 e R51. Nesse caso, seria esperada uma heterocoagulação de partículas menores com menor densidade de cargas na superfície, como mostram os resultados de potencial zeta para o valor de pH 4,5, isto é, pH do meio reacional (HOARE; PELTON, 2006).

Figura 4.9- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) de partículas ((a1) e (b1)) e potencial zeta ((a2) e (b2)) em função do pH para partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (R50 e R51)

Fonte: Próprio autor.

As **Figuras 4.10 (a) e (b)** mostram a variação do D_h , em função da temperatura e em pH 7,4, para partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), R51 e R50, sintetizadas com 3% e 4,5% de AI, 3% e 2% de EGDMA, 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno com relação à massa de NVCL, respectivamente. Assim como ocorreu no estudo de sensibilidade ao pH, é observado que os nanogéis contendo cetoprofeno encapsulado também apresentaram menor sensibilidade à temperatura, comparados aos nanogéis sintetizados sem cetoprofeno, (R8 e R1). As interações hidrofóbicas entre moléculas de cetoprofeno e as cadeias de PNVCL podem competir com as interações hidrofóbicas entre as macrocadeias (polímero-polímero). Assim as interações fármaco-polímero podem estar limitando o grau de liberdade das cadeias poliméricas, o que limita o intumescimento e a contração das partículas.

Figura 4.10- Variação do diâmetro hidrodinâmico (D_h) em função da temperatura para as partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (R50 e R51)

Fonte: Próprio autor.

4.2.1.1 Eficiência de encapsulação (EE)

A **Tabela 4.6** mostra a eficiência de encapsulação de cetoprofeno (EE), em porcentagem, para os nanogéis R50 e R51. Os resultados mostraram uma eficiência de encapsulação de 39,6% e 57,8%, para os nanogéis R50 e R51, respectivamente, indicando uma baixa encapsulação de cetoprofeno nas partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-

co-EGDMA), principalmente para as partículas obtidas na reação R50. Embora as macrocadeias de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) possuam afinidade pelas moléculas hidrofóbicas de cetoprofeno, devido ao fato de serem ricas em NVCL, monômero hidrofóbico, a eficiência de encapsulação pode ter sido prejudicada pela incorporação de comonômero hidrofílico ácido itacônico. Isso pode explicar a menor eficiência de encapsulação do nanogel R50 comparado ao nanogel R51, o qual foi sintetizado com menor concentração de ácido itacônico. Além disso, o cetoprofeno é um ácido fraco e o pK_a do seu grupo carboxílico é 4,6, valor próximo ao pH do meio reacional utilizado para a síntese dos nanogéis, isto é, pH 4,5 (JEONG; BAE; KIM, 2000; EL-KAMEL et al., 2001). Assim, esse pH favorece tanto a ionização parcial dos grupos carboxílicos do cetoprofeno quanto dos grupos carboxílicos do ácido itacônico, o qual possui $pK_a^I = 3,85$. Essa ionização pode desfavorecer a encapsulação do cetoprofeno devido à repulsão entre grupos carboxílicos ionizados das moléculas de cetoprofeno e do ácido itacônico. Isso também pode justificar a eficiência de encapsulação de 57,8% dos nanogéis R51, mesmo que sua formulação contenha menor concentração de ácido itacônico na carga inicial de monômeros. Prabahrn et al. (2008) encapsularam cetoprofeno em matrizes copoliméricas de quitosana-g-PNVCL sintetizadas em água. Os autores obtiveram uma eficiência de encapsulação de cetoprofeno de 30%, corroborando a baixa eficiência de encapsulação desse fármaco durante a execução deste trabalho. Esses resultados também reforçam a hipótese de que a presença de meros ou polímeros hidrofílicos como ácido itacônico ou quitosana, respectivamente, pode desfavorecer a encapsulação de cetoprofeno durante a polimerização por precipitação ou por adsorção pela matriz polimérica.

Tabela 4.6- Eficiência de encapsulação (EE) do cetoprofeno nas partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizadas com 1,25%, de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL

Reação	EE (%)
R50	39,6
R51	57,8

R50: nanogéis sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA, 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno com relação à massa de NVCL. R51: nanogéis sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA, 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno com relação à massa de NVCL.

Fonte: Próprio autor.

4.2.1.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A **Figura 4.11** mostra micrografias de MEV do cetoprofeno puro (**a1** e **a2**) e dos nanogéis contendo cetoprofeno encapsulado R50 (**b1** e **b2**) e R51 (**c1** e **c2**). As **Figuras 4.11 (a1)** e **(a2)** confirmam a estrutura cristalina do cetoprofeno, enquanto que nas micrografias de MEV dos nanogéis R50 (**Figuras 4.11 (b1)** e **(b2)**) e R51 (**Figuras 4.11 (c1)** e **(c2)**) esses cristais não foram observados. Isso sugere que o cetoprofeno foi encapsulado pelas partículas dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), corroborando os resultados obtidos de eficiência de encapsulação (EE). Além disso, esses resultados também sugerem a possibilidade de perda de cetoprofeno no sobrenadante das amostras de nanogéis, em função da sua baixa solubilidade em água.

Figura 4.11- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV), de cristais de cetoprofeno e de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado

Cetoprofeno puro com ampliação de 2 kx (a1) e de 5 kx (a2). Nanogel obtido na reação R50 com ampliação de 2 kx (b1) e de 5 kx (b2). Nanogel obtido na reação R51 com ampliação de 2kx (c1) e de 5 kx (c2).

Fonte: Próprio autor.

4.2.1.3 Difração de raios X (DRX)

A **Figura 4.12** compara os difratogramas de raios X, obtidos para os nanogéis obtidos nas reações R1 e R8, sem cetoprofeno, com os nanogéis obtidos nas reações R51 e R50, respectivamente, contendo cetoprofeno encapsulado. Além disso, a Figura 4.12 mostra o difratograma obtido para o cetoprofeno puro, no qual podem ser observados picos na região entre 5° e 20°, evidenciando a cristalinidade do fármaco. CHAN et al. (2015) observaram a cristalinidade de cetoprofeno entre 13° e 25° em seus difratogramas. Essa diferença ocorreu devido à diferença de comprimento de onda entre os feixes de radiação CuK α e MoK α , os quais são mais utilizados na análise de DRX. Isso pode levar a um pequeno deslocamento dos picos no difratograma (VASCONCELOS, 2014; PARRISH; KOHLER, 1956). Os difratogramas dos nanogéis sem cetoprofeno, R1 e R8, não apresentaram picos na região entre 13° e 25°, indicando que a matriz polimérica é amorfa. A mesma característica é observada nos difratogramas dos nanogéis contendo cetoprofeno, evidenciando a encapsulação do fármaco pela matriz polimérica. Esses resultados sugerem que houve interações em nível molecular entre cetoprofeno e a matriz polimérica, resultando na formação de uma dispersão polímero-fármaco amorfa (CHAN et al., 2015; MAESTRELLI et al., 2015). Os resultados dos difratogramas de raios X corroboram os resultados obtidos na caracterização dos nanogéis pela técnica de MEV, os quais não detectaram cristais de cetoprofeno misturados aos nanogéis purificados e secos.

Figura 4.12- Difrátogramas de raios X do cetoprofeno puro, dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) (reações R1 e R8) puros e contendo cetoprofeno encapsulado (reações R50 e R51)

R1: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL. R51: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA, 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL. R8: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL. R50: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) 4,5% de AI, 2% de EGDMA, 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno com relação à massa de NVCL.

Fonte: Próprio autor.

4.2.1.4 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada a fim de estudar o comportamento térmico dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e para complementar os resultados que comprovam a encapsulação do cetoprofeno. Foram realizadas duas corridas para cada amostra com o objetivo de remover o histórico térmico, e os dados do primeiro e do segundo ciclo de aquecimento são apresentados na **Figura 4.13**, exceto para a amostra de cetoprofeno puro, para qual são apresentados os dados apenas do primeiro ciclo de aquecimento.

Figura 4.13- Termogramas de DSC do cetoprofeno puro, dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) (reações R1 e R8) e de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (reações R50 e R51)

(a) Cetoprofeno puro. (b1 e b2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL (amostra R1). (c1 e c2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA, 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL (amostra R51). (d1 e d2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL (amostra R8). (e1 e e2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA, 1% de KPS, 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL (amostra R50). T_g =temperatura de transição vítrea e T_m = temperatura de fusão.

Figura 4.13- Termogramas de DSC do cetoprofeno puro, dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) (reações R1 e R8) e de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (reações R50 e R51)

(a) Cetoprofeno puro. (b1 e b2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL (amostra R1). (c1 e c2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA, 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL (amostra R51). (d1 e d2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL (amostra R8). (e1 e e2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA, 1% de KPS, 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL (amostra R50). T_g =temperatura de transição vítrea e T_m = temperatura de fusão.

Figura 4.13- Termogramas de DSC do cetoprofeno puro, dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) (reações R1 e R8) e de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (reações R50 e R51)

(a) Cetoprofeno puro. (b1 e b2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL (amostra R1). (c1 e c2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA, 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL (amostra R51). (d1 e d2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS com relação à massa de NVCL (amostra R8). (e1 e e2) Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA, 1% de KPS, 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL (amostra R50). T_g =temperatura de transição vítrea e T_m = temperatura de fusão.

Fonte: Próprio autor.

É observado no primeiro ciclo de aquecimento do cetoprofeno (**Figura 4.13 (a)**) um evento endotérmico de primeira ordem em 97°C, caracterizado por um pico definido, o qual se refere à temperatura de fusão (T_m) do fármaco. Valores de temperatura de fusão idênticos para o cetoprofeno foram relatados nos trabalhos de Chan et al. (2015) e Gaudio et al. (2009). Esse resultado comprova o estado cristalino do cetoprofeno, e são corroborados pelo difratograma de DRX do cetoprofeno puro.

Analisando os termogramas obtidos para os nanogéis sem cetoprofeno (**Figuras 4.13 (b2) e (d2)**), é observada uma transição térmica de segunda ordem em 26,6°C e em 30,8°C, as quais se referem à transição vítrea (T_g) dos copolímeros poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), R1 e R8, respectivamente. Liu et al. (2014) reportaram que a temperatura de transição vítrea do homopolímero PNVCL pode variar entre 147°C (polímero seco) até -17°C, dependendo do teor de umidade da amostra e que a água funciona como um plastificante, diminuindo a T_g do polímero. Embora as cadeias de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sejam compostas por três meros, NVCL, AI e EGDMA, as mesmas são ricas em NVCL, o que permite sugerir as T_g 's calculadas estejam relacionadas ao mero em maior quantidade nas suas cadeias, além do efeito plastificante da água.

O efeito plastificante da água é resultante das interações de hidrogênio entre moléculas de água e cadeias de PNVCL e entre moléculas de água e grupos carboxílicos dos comonomeros ácido itacônico. A pequena diferença na composição das cadeias

poliméricas em partículas dos nanogéis R1 e R8, não alterou significativamente a T_g do copolímero poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA). Isso se deve ao fato da variação nas quantidades de ácido itacônico e de EGDMA utilizadas nas formulações dos nanogéis R1 e R8 serem pequenas, comparadas à quantidade de NVCL.

O tamanho de partícula também pode ter contribuído para pequenas diferenças entre as T_g 's dos copolímeros. As partículas do nanogel sintetizado a partir da formulação R1 são 35% maiores que as partículas do nanogel sintetizado a partir da formulação R8. Isso sugere que esses copolímeros podem apresentar uma maior quantidade de moléculas de água retida, e conseqüentemente, uma T_g menor. O mesmo fenômeno pode ser observado nos termogramas dos nanogéis com cetoprofeno.

Os termogramas dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado, (**Figura 4.13 (c2) e (e2)**), mostram uma transição térmica de segunda ordem (T_g) em aproximadamente 26,6°C e em 37,5 °C, para as amostras R51 e R50, respectivamente. A presença do cetoprofeno não alterou significativamente as T_g 's dos nanogéis R51 e R50, quando comparada às T_g 's dos nanogéis sem cetoprofeno, R1 e R8, respectivamente. Isso pode ser justificado pela pequena quantidade de cetoprofeno encapsulado nas partículas, comparada à quantidade de meros NVCL que compõem essas partículas. Porém o pequeno aumento da T_g comparando os nanogéis sem cetoprofeno (amostra R8) com os nanogéis com cetoprofeno (amostra R50), sugere que essa diferença nos valores de T_g pode estar relacionada ao diferente grau de plastificação das cadeias poliméricas dos nanogéis. A ausência de eventos endotérmicos nos termogramas das amostras R50 e R51 sugere que o cetoprofeno, em sua maioria, está molecularmente disperso entre as macrocadeias dos nanogéis (GUE et al., 2015). O amorfismo dos nanogéis contendo cetoprofeno pode estar relacionado a ligações hidrogênio, intermoleculares, entre o fármaco e as macrocadeias poliméricas (CHAN et al., 2015).

As **Figuras 4.13 (b1), (d1), (c1) e (e1)** mostram os termogramas de DSC do primeiro ciclo de aquecimento de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno (amostras R1 e R8) e contendo cetoprofeno encapsulado (amostras R51 e R50), respectivamente. O pico de fusão para as partículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno aparece nos termogramas em 152,2°C para a amostra R1 (**Figura 4.13 (b1)**) e em 155,4°C para a amostra R8 (**Figura 4.13 (d1)**), e o mesmo não aparece nos termogramas das partículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno (amostras R51 e R50) (**Figuras 4.13 (c1) e (e1)**). Isso reforça a hipótese de

que houve interação do cetoprofeno com o copolímero poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e que o fármaco encontra-se molecularmente disperso na matriz polimérica.

4.2.1.5 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier foi utilizada neste trabalho para avaliar qualitativamente a formação de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) (**Figura 4.14 (a)**) e como uma técnica complementar para investigar a interação de cetoprofeno com a matriz polimérica (**Figura 4.14 (b)**). A **Figura 4.14 (a)** apresenta os espectros do comonômero ácido itacônico (AI) e dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) obtidos nas reações R1 e R8, respectivamente. Nos espectros dos nanogéis R1 e R8 são observadas todas as bandas e picos referentes aos monômeros de partida NVCL, AI e EGDMA. A banda larga entre 3644 e 3162 cm^{-1} refere-se à ligação O-H da hidroxila dos grupos carboxílicos das unidades de ácido itacônico e também pode sugerir a presença de moléculas de água residuais após a secagem dos nanogéis, uma vez que possuem estrutura reticulada e afinidade pela água. As vibrações de estiramento dos grupos N-H (3236 cm^{-1}), referentes às interações entre macrocadeias de PNVCL e moléculas de água, estão sobrepostas pela banda larga referente às interações O-H. A banda em 1723 cm^{-1} refere-se ao estiramento da ligação C=O, da carbonila do ácido itacônico, a qual sofreu um pequeno deslocamento, quando comparada com a mesma banda no espectro do ácido itacônico, onde aparece em 1800 cm^{-1} . Os picos 1627 cm^{-1} e 1447 cm^{-1} referem-se ao estiramento da ligação C=O, da carbonila e às ligações de estiramento, C-N, do anel caprolactama, respectivamente. (BEDNARZ et al., 2014; PRABAHARAN et al.; 2008). Ainda sobre os picos 1723 cm^{-1} e 1627 cm^{-1} , estes também podem estar sobrepostos pelo estiramento da ligação C=O da carbonila do agente reticulante EGDMA (ADALI; YLMAZ, 2009). A banda em 1192 cm^{-1} refere-se às ligações de estiramento C-O entre carbono e oxigênio dos grupos carboxílicos do ácido itacônico (BEDNARZ et al., 2014).

A **Figura 4.14 (b)** apresenta os espectros do cetoprofeno e dos nanogéis obtidos nas reações R1 e R8, e dos nanogéis contendo cetoprofeno, R51 e R50. Os espectros dos nanogéis R50 e R51 apresentam todas as bandas que foram identificadas nos respectivos

nanogéis R8 e R1 sem cetoprofeno. No espectro do cetoprofeno pode ser verificada a presença de dois picos principais em 1690 cm^{-1} e em 1708 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação C=O, da carbonila. Porém esses dois picos não puderam ser identificados nos espectros dos nanogéis obtidos nas reações R50 e R51, porque essa vibração de estiramento está sobreposta por outra vibração de estiramento da ligação C=O, da carbonila, presente também nos espectros dos nanogéis sem e contendo cetoprofeno. Contudo, a interação de moléculas de cetoprofeno com a matriz polimérica pode ser corroborada pelas três bandas que aparecem no espectro do cetoprofeno na região entre 729 cm^{-1} e 689 cm^{-1} , as quais diminuem de intensidade formando uma só banda centrada em 725 cm^{-1} no espectro dos nanogéis contendo cetoprofeno (CHAN et al., 2015). Esses resultados reforçam a hipótese do estado amorfo do cetoprofeno após sua encapsulação na matriz de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e interação com a mesma, corroborando também os resultados obtidos por DRX e DSC.

Figura 4.14- Espectros de FTIR de cetoprofeno puro e de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno e contendo cetoprofeno encapsulado

AI: ácido itacônico. R1: nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) não carregados com cetoprofeno sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA e 1% de KPS. R8: nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS.

Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado e sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA e 1% de KPS (R1) e carregados com cetoprofeno (R51). Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado e sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA e 1% de KPS (R8) e carregados com cetoprofeno (R50).

Fonte: Próprio autor.

4.2.1.6 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As **Figuras 4.15** e **4.16** mostram as micrografias de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno e contendo cetoprofeno encapsulado, amostras R1 e R51 e amostras R8 e R50, respectivamente, obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET). É observado que todas as partículas dos nanogéis possuem formato esférico tamanho de partícula homogêneo. Os valores de diâmetros médios de partículas (D_p) obtidos por MET, utilizando o software Image J®, confirmam os resultados de diâmetros hidrodinâmicos (D_h) obtidos por espalhamento de luz. Os valores encontrados para D_p e D_h estão apresentados na **Tabela 4.7**. Também pode ser observado nas micrografias dos nanogéis contendo cetoprofeno (**Figuras 4.15 (b3), (b4) e (b5) e 4.16 (b1) e (b3)**), a presença de cristais de cetoprofeno não encapsulado, uma vez que as amostras foram preparadas sem a remoção do fármaco não encapsulado. Além disso, é importante ressaltar que a encapsulação de cetoprofeno não causou uma mudança significativa na polidispersidade das partículas e nem no diâmetro dessas, devido à pequena quantidade de cetoprofeno adicionada à mistura de monômeros antes da polimerização.

Figura 4.15- Micrografias de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno (amostra R1) e contendo cetoprofeno encapsulado (amostra R51)

Amostra R1: ampliações de 40 kx (a1), 80 kx (a2) e 90 kx (a3). Amostra R51: ampliações de 40 kx (b1), 50 kx (b2), 40 kx (b3), 80 kx (b4 e b5).

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.16- Micrografias de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sem cetoprofeno (amostra R8) e contendo cetoprofeno encapsulado (amostra R50)

Amostra R8: ampliações de 50 kx (a1), 60 kx (a2 e a3). Amostra R50: ampliações de (40 kx) (b1, b2 e b3).

Fonte: Próprio autor.

Tabela 4.7- Comparação entre o diâmetros médio de partículas obtidos por análise de micrografias de MET (D_p) e diâmetros hidrodinâmico (D_h) obtidos por espalhamento de luz, para partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) puros e contendo cetoprofeno encapsulado

Amostra	D_p (nm)	σ (nm) ¹	D_h (nm)	PDI ²
R1	183,9	±17,2	190,6	0,025
R8	109,0	±18,9	122,8	0,018
R51	197,9	±4,5	185,9	0,027
R50	122,5	±21,8	120,6	0,014

¹Desvio Padrão. ²Índice de polidispersidade

Fonte: Próprio autor.

4.2.2 Testes de liberação *in vitro* de cetoprofeno a partir de partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA)

Os testes de liberação *in vitro* de cetoprofeno foram realizados em pH 1,2 e 7,4, nas temperaturas de 25°C e 37°C, a fim de estudar o perfil de liberação do cetoprofeno a partir das partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA), obtidas nas reações R50 e R51. As concentrações de cetoprofeno no meio de liberação foram calculadas utilizando-se um espectrofotômetro UV-visível e as curvas de calibração construídas a partir dos meios de liberação com pH 1,2 e 7,4.

As Figuras 4.17 e 4.18 mostram os testes de liberação de cetoprofeno em pH 1,2 nas temperaturas de 37°C e 25°C, respectivamente.

Figura 4.17- Liberação de cetoprofeno a 37°C e pH 1,2 a partir de partículas de nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) obtidas nas reações R50 e R51

R51: Nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA, 1% de KPS (R1) e 1,2% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL. R50: Nanogéis de poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA, 1% de KPS (R1) e 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL.

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.18- Liberação de cetoprofeno a 25°C e pH 1,2 a partir de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) obtidas nas reações R50 e R51

R51: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA, 1% de KPS (R1) e 1,2% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL. R50: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA, 1% de KPS (R1) e 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL.

Fonte: Próprio autor.

No pH 1,2, tanto na primeira condição de liberação, na temperatura de 37°C (**Figura 4.17**), como na segunda condição de liberação, na temperatura de 25°C (**Figura 4.18**), o percentual de cetoprofeno liberado foi baixo. O mecanismo de liberação de fármacos por difusão depende de dois parâmetros críticos: a solubilidade e a difusividade do fármaco. A solubilidade do fármaco é uma propriedade relacionada à interação do fármaco com a matriz polimérica, quanto maior a interação entre fármaco e matriz polimérica, menor é a velocidade de difusão. Já a difusividade trata-se de uma propriedade cinética relacionada à facilidade da molécula de fármaco se mover através das cadeias poliméricas, o que vai depender das características físico-químicas do fármaco e do hidrogel (COSTA, 2013). No pH 1,2 os grupos carboxílicos das macrocadeias estão não-ionizados, devido ao pH estar abaixo dos pK_a 's dos grupos carboxílicos do ácido itacônico. A não-ionização dos grupos carboxílicos, mantém os nanogéis em um estado contraído, e pode dificultar a difusão do cetoprofeno pela matriz polimérica, e consequentemente, sua liberação para o meio. Nesse pH também, a solubilidade do cetoprofeno é menor, uma vez que é um fármaco derivado de um ácido fraco ($pK_a = 4,6$) com grupos carboxílicos não-

ionizáveis nesse pH. (EL-KAMEL et al., 2001). Além disso, o fato dos grupos carboxílicos das moléculas de cetoprofeno e do ácido itacônico estarem não-ionizados, dificulta ainda mais a liberação do fármaco, uma vez que não há repulsão entre esses grupos carboxílicos que pudessem acelerar a liberação. Assim, era esperado que a interação entre fármaco e as cadeias poliméricas, associada à solubilidade do cetoprofeno e à sensibilidade ao pH das partículas de nanogel em pH 1,2, interferissem no perfil de liberação de cetoprofeno.

Para as partículas de nanogel obtido na reação R51 é observado que na temperatura de 37°C a liberação de cetoprofeno foi maior do que na temperatura de 25°C, 59% e 37%, respectivamente. Isso sugere que o aumento de temperatura, para um valor acima da LCST, da PNVCL tenha causado o rompimento de interações hidrofílicas entre cadeias de PNVCL e moléculas de água, levando a um predomínio das interações hidrofóbicas entre cadeias de PNVCL (polímero-polímero). Assim, moléculas de água foram expulsas das cadeias de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), carreando moléculas de fármaco para o meio de liberação. Na temperatura de 25°C, as cadeias de PNVCL estão solvatadas por moléculas de água, não causando a contração das partículas, consequentemente, era esperado que o percentual de cetoprofeno liberado nessa temperatura fosse menos acentuado (ASOH et al., 2006). Porém para as partículas de nanogel obtido na reação R50, os percentuais de liberação de cetoprofeno nas temperaturas de 37°C (34%) (**Figura 4.17**) e 25°C (33%) (**Figura 4.18**) são praticamente iguais, indicando que não houve diferenças entre os perfis de liberação de cetoprofeno nas duas temperaturas. Isso sugere que o cetoprofeno possa ter uma maior interação com as cadeias poliméricas das partículas do nanogel obtido na reação R50, embora essas partículas sejam mais hidrofílicas, devido à maior concentração de ácido itacônico adicionada a sua formulação. Nesse caso, o menor tamanho das partículas R50 proporciona uma maior área superficial a essas partículas, o que contribui para uma maior interação entre o fármaco e a matriz polimérica. Assim, a maior interação fármaco-polímero retém o fármaco no interior da partícula, superando o efeito de maior hidrofiliabilidade dessas partículas, que poderia acelerar a liberação de cetoprofeno.

As **Figuras 4.19 e 4.20** mostram os testes de liberação de cetoprofeno em pH 7,4 nas temperaturas de 37°C e 25°C, respectivamente

Figura 4.19- Liberação *in vitro* de cetoprofeno a 37°C e pH 7,4 a partir das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) obtidas nas reações R50 e R51

R51: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA, 1% de KPS (R1) e 1,2% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL. R50: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA, 1% de KPS (R1) e 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL.

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.20- Liberação de cetoprofeno a 25°C e pH 7,4 a partir dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) obtidas nas reações R50 e R51

R51: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 3% de AI, 3% de EGDMA, 1% de KPS (R1) e 1,2% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL. R50: Nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sintetizados com 4,5% de AI, 2% de EGDMA, 1% de KPS (R1) e 1,25% de cetoprofeno, com relação à massa de NVCL

Fonte: Próprio autor.

No pH 7,4 e na temperatura de 37°C (**Figura 4.19**), tanto as partículas do nanogel obtido na reação R50, quanto as partículas do nanogel obtido na reação R51 liberaram 100% do cetoprofeno encapsulado, porém em intervalos de tempo diferentes. Enquanto a amostra R50 liberou todo o cetoprofeno encapsulado em 24 horas, a amostra R51 demorou o dobro do tempo, ou seja, 48 horas. Nessa condição, os grupos carboxílicos do ácido itacônico estão ionizados, pois esse pH está acima dos dois pK_a 's de cada grupo carboxílico, $pK_a^1 = 3,85$ e $pK_a^2 = 5,45$, respectivamente (BOCOURT et al., 2014). A repulsão entre esses grupos causa um afastamento entre as macrocadeias poliméricas, aumentando o volume das partículas de nanogel. Assim, as moléculas de cetoprofeno podem se difundir mais facilmente pela estrutura das partículas para o meio de liberação. Na temperatura de 37°C, como foi explicado anteriormente, ocorre o rompimento das ligações hidrogênio entre as cadeias de PNVCL e as moléculas de água. Isso faz com que as moléculas de água sejam expulsas das macrocadeias, carreando as moléculas de cetoprofeno para o meio de liberação. Além disso, a 37°C e em pH acima do seu pK_a , o cetoprofeno é mais solúvel em meio aquoso do que à temperatura de 25°C (EL-KAMEL et

al., 2001), o que auxilia na sua liberação, juntamente com a expulsão das moléculas de água nessa temperatura.

A diferença entre o tempo de liberação dos nanogéis obtidos nas reações R50 e R51 pode ser explicada pela diferença de diâmetro hidrodinâmico entre as partículas e pela diferença de interação entre fármaco e polímero, assim como foi sugerido nos resultados de liberação de cetoprofeno em pH 1,2. A diferença do diâmetro hidrodinâmico das partículas está relacionada, principalmente, a diferentes concentrações de ácido itacônico utilizadas em suas formulações. Quanto menor o tamanho da partícula, maior a sua área superficial em contato com o meio de liberação. Isso pode contribuir para o aumento da biodisponibilidade e solubilidade do fármaco, consequentemente, sua liberação pode ser mais rápida, como foi observado na liberação de cetoprofeno a partir das partículas do nanogel obtido na reação R50 em pH 7,4 à 37°C (DIXIT; SINGH; STUTI, 2012).

No pH 7,4 e na temperatura de 25°C (**Figura 4.20**), os resultados mostraram menor percentual de liberação de cetoprofeno para as partículas de nanogel obtidos na reação R50 (32%) e R51 (68%) comparados ao percentual de cetoprofeno liberado por esses nanogéis em pH 7,4 e na temperatura de 37°C. Isso já era esperado, uma vez que a temperatura de 25°C é inferior à LCST da PNVCL, o que mantém suas cadeias poliméricas solvatadas. Consequentemente, não há contração das partículas para a expulsão de moléculas de água e de cetoprofeno encapsulado para o meio de liberação e a liberação de cetoprofeno é menos acentuada. Além disso, isso pode estar relacionado à solubilidade do cetoprofeno em água, o qual, embora seja mais solúvel em pH 7,4, devido à ionização dos grupos carboxílicos de suas moléculas, é menos solúvel a 25°C do que a 37°C (MARTINEZ et al, 2014). Essa hipótese pode ser corroborada pela curva de liberação do fármaco puro, apresentada nas **Figuras 4.19 e 4.20**. Nessa condição de liberação, pH 7,4 e na temperatura de 25°C, também é observado que o perfil de liberação do cetoprofeno é mais controlado do que em pH 7,4 e na temperatura de 37°C, devido à formação de um platô na curva de liberação à 25°C.

Os resultados também mostram que apesar do efeito de sensibilidade ao pH predominar sobre o efeito de sensibilidade à temperatura na liberação de cetoprofeno pelas partículas de nanogel, as partículas obtidas na reação R50 mostram-se mais dependentes do efeito temperatura para liberar o cetoprofeno do que as partículas obtidas na reação R51. Comparando o percentual de cetoprofeno liberado após 52h de testes em pH 1,2 nas

temperaturas de 37°C e de 25°C com o percentual de fármaco liberado após o mesmo período em pH 7,4 na temperatura de 25°C, observa-se que os percentuais foram muito próximos, 34, 33 e 32%, respectivamente. Isso mostra que para as partículas obtidas na reação R50, o efeito de sensibilidade ao pH, ou seja, o intumescimento das cadeias poliméricas em pH 7,4, não é suficiente para liberar o cetoprofeno encapsulado, devido a maior interação entre fármaco e a matriz polimérica. Nesse caso, o aumento de temperatura é necessário para auxiliar na difusão do cetoprofeno, como foi comprovado pelos testes de liberação do cetoprofeno em pH 7,4 na temperatura de 37°C, no qual 100% do fármaco encapsulado foi liberado.

Os resultados evidenciam que as partículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) dos nanogéis obtidos nas reações R51 e R50 apresentam um perfil típico de liberação controlada, pois os dois nanogéis, respectivamente, apresentaram percentuais limites de cetoprofeno liberado de 59% e 34%, e 37% e 33%, em pH 1,2 nas temperaturas de 37°C e 25°C. Em pH 7,4, e a 37°C, ambos os nanogéis (amostras R50 e R51) liberaram 100% do cetoprofeno encapsulado, enquanto que em pH 7,4 e a 25°C, o percentual limite de cetoprofeno liberado foi de 68% para a amostra R51 e de 32% para a amostra R50. Os percentuais limites de cetoprofeno são confirmados pelo platô nas curvas de liberação.

Com base nos resultados dos testes de liberação para as amostras de nanogéis R50 e R51, pode-se concluir que o pH 7,4 se mostrou a melhor condição para difusão e controle da liberação do cetoprofeno. E considerando que a temperatura acima da LCST da PNVCL possa auxiliar na liberação de cetoprofeno para o meio, e que a temperatura fisiológica do corpo humano seja próxima à 37°C, a temperatura de 37°C foi escolhida para dar seguimento aos testes de liberação a partir de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado. Embora as partículas de nanogel tenham apresentado um perfil de liberação de cetoprofeno mais controlado na temperatura de 25°C, o outro motivo para a escolha da temperatura de 37°C, foi avaliar a capacidade da quitosana auxiliar no controle da liberação do cetoprofeno.

4.3 Preparação de micropartículas de quitosana pura e de quitosana incorporadas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) via secagem por pulverização

Nesta sessão é descrita a preparação de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno (quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)/cetoprofeno) sensíveis à temperatura e ao pH. As micropartículas foram preparadas através da técnica de secagem por pulverização (*spray drying*) e estudou-se o perfil de liberação de cetoprofeno encapsulado na matriz de quitosana/ poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)/cetoprofeno) contendo diferentes proporções em massa dos polímeros.

A incorporação de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno na matriz de quitosana foi realizada em duas etapas: gelificação iônica seguida de secagem por pulverização. As micropartículas de quitosana pura foram pulverizadas imediatamente após o preparo da solução de quitosana em ácido acético.

4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As **Figuras 4.21 a 4.25** mostram micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas de quitosana pura (Q95) e de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) (quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno) contendo cetoprofeno encapsulado, Q95^aR50^b-40%^c, Q95^aR50^b-70%^c, Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c, respectivamente. É observado que todas as micropartículas apresentaram uma distribuição de tamanho heterogênea e aglomerações, o que era esperado para esse tipo de sistema híbrido (LI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2013). A utilização do pulverizador *Nano Spray Dryer B-90* Büchi® pode causar a formação de micropartículas com distribuição de tamanho mais heterogênea do que a utilização de pulverizadores da série *Mini Spray Dryer*. Isso ocorre devido ao fato das micropartículas secas no pulverizador da série *Nano*, não passarem por um fracionamento, quanto ao seu tamanho, durante a etapa de recuperação no coletor eletrostático. Embora não ocorra esse fracionamento, esse pulverizador pode oferecer um índice de recuperação de partículas maior comparado a outros pulverizadores, uma vez que produtos

farmacêuticos são caros e testados em baixa quantidade (BROICHSITTER; STREHLOW; KISSEL, 2015). Os pulverizadores da série *Mini Spray Dryer* possuem um sistema de coleta diferente, composto por um ciclone, o qual remove partículas menores, aumentando assim, a homogeneidade quanto à distribuição do tamanho das micropartículas (LEE et al., 2011). As condições de secagem utilizadas para a preparação de micropartículas de quitosana pura e de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno e a não utilização de surfactante na preparação da mistura polimérica, baseado em um estudo realizado por Broichsitter, Strehlow e Kissel (2015), também pode ter contribuído significativamente para a heterogeneidade da distribuição de tamanho das micropartículas de quitosana pura e de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno e para sua aglomeração. A formação de agregados também pode estar relacionada ao efeito capilar do solvente ao ser evaporado da superfície das gotículas, o qual é dominante às forças repulsivas entre micropartículas durante a evaporação do solvente (BROICHSITTER et al., 2012). Outros três fatores, os quais serão discutidos adiante, e que também podem ter contribuído especialmente para a agregação das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) durante o processo de secagem é o alcance da temperatura de transição vítrea (T_g) dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) na etapa da atomização, a hidrofiliabilidade da quitosana e dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), a qual pode dificultar a evaporação de água durante a pulverização e a baixa densidade de cargas na superfície das micropartículas. Embora a temperatura de secagem utilizada no processo seja a máxima permitida pelo equipamento (120°C), a temperatura de evaporação das gotículas é relativamente baixa, devido ao efeito de resfriamento causado pelo calor latente de vaporização do solvente (ARPARGAUS, 2012). A presença de sais dissolvidos, devido à redispersão das partículas de nanogéis purificadas em solução tampão (pH 4,5) também pode causar o aumento da temperatura de ebulição do solvente. No caso da dispersão de polímeros em água, a temperatura de ebulição pode ultrapassar 100°C, dificultando sua vaporização.

É notado também que a aglomeração de micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno foi mais acentuada, quando a concentração de nanopartículas de nanogel de maior diâmetro (amostra R51) foi aumentada de 40% ($Q95^a R51^b - 40\%^c$) para 70% ($Q95^a R51^b - 70\%^c$) com relação à massa de quitosana. Porém a acentuação de aglomeração de partículas não foi observada quando aumentou-se a concentração de nanopartículas de nanogel de menor diâmetro (amostra R50) de 40%

(Q95^aR50^b-40%^c) para 70% (Q95^aR50^b-70%^c) com relação à massa de quitosana. Nesse caso foi observada apenas uma morfologia irregular das micropartículas. Além da ausência de surfactante na dispersão líquida, as micropartículas secas podem conter umidade, especialmente considerando que a eficiência de evaporação da água é menor. As condições de secagem utilizadas, temperatura de 120°C e velocidade de bombeamento máxima (3), podem ter sido insuficientes na evaporação completa das moléculas de água, as quais podem estar fortemente ligadas às cadeias poliméricas de quitosana e de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA). Esses fatores associados ao aumento da interação eletrostática entre a matriz de quitosana e os nanogéis, o que é corroborado pelos resultados de potencial zeta, os quais serão discutidos adiante, podem justificar a aglomeração das partículas (**Figura 4.25**). O aumento da concentração de nanogéis na dispersão líquida quitosana-nanogéis, resulta no aumento do número de grupos carboxílicos ionizáveis para interagir com grupos amino protonados da quitosana. Essas interações podem formar complexos polieletrólitos mais estáveis, que dificultam a evaporação do solvente durante a secagem. Nesse caso o efeito de capilaridade do solvente, ou seja, seu movimento do centro da gotícula para a superfície, é lento e as partículas demoram mais tempo para secarem. Assim, não há força repulsiva suficiente entre as partículas para mantê-las separadas e então aglomeram durante a secagem (BROICHSITTER et al., 2012).

Figura 4.21- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas de quitosana pura (Q95) obtidas via secagem por pulverização

Micropartículas de quitosana pura (amostra Q95): ampliações de 2 kx (a), 2,5 kx (b) e 5 kx (c).

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.22- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno (Q95^aR51^b-40%^c) obtidas via secagem por pulverização

(a)

(b)

(c)

Micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno contendo 40% de partículas de nanogel obtido na reação R51, com relação à massa de quitosana (amostra Q95^aR51^b-40%^c): ampliações de 2 kx (a), 5 kx (b) e (c).

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.23- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno (Q95^aR51^b-70%^c) obtidas via secagem por pulverização

Micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno contendo 70% de partículas de nanogel obtido na reação R51, com relação à massa de quitosana (amostra Q95^aR51^b-40%^c): ampliações de 1,5 kx (a), 2 kx (b) e 3 kx (c).

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.24- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno (Q95^aR50^b-40%^c) obtidas via secagem por pulverização

Micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo 40% de partículas de nanogel obtido na reação R50, com relação à massa de quitosana (amostra Q95^aR50^b-40%^c): ampliações de 1,5 kx (a), 1,5 kx (b) e 3 kx (c).

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.25- Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de micropartículas quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno (Q95^aR50^b-70%^c) obtidas via secagem por pulverização

Micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo 70% de partículas de nanogel obtido na reação R50, com relação à massa de quitosana (amostra Q95^aR50^b-70%^c): ampliações de 1,2 kx (a), 1,5 kx (b) e 2,5 kx (c).

Fonte: Próprio autor.

Broichsitter, Strehlow e Kissel (2015) estudaram o efeito da distribuição de tamanho de micropartículas de poli(lactídeo-*co*-glicolídeo) na liberação de sildenafil, um fármaco utilizado em tratamentos de doenças respiratórias, em pH 7,4 a 37°C. As micropartículas secas foram preparadas no pulverizador *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi®, e os autores substituíram o coletor eletrostático pelo Next Generation Impactor Büchi®, um tipo de coletor capaz de fracionar as micropartículas secas de acordo com sua aerodinâmica, utilizando o gás de secagem. As micropartículas foram coletadas em quatro diferentes estágios de tempo durante a secagem, o que permitiu sua separação em quatro

faixas de diâmetro, variando de 2,1 a 7,8 μ m. A título de comparação, micropartículas de poli(lactídeo-co-glicolídeo) também foram coletadas utilizando o coletor eletrostático, ou seja, sem fracionamento quanto à distribuição de tamanho de partículas. Os resultados desse estudo mostraram que houve uma heterogeneidade maior da distribuição do tamanho para as micropartículas coletadas no início do processo de secagem. Li et al. (2010) também obtiveram resultados semelhantes aos de Broichsitter, Strehlow e Kissel (2015) em um estudo sobre a avaliação de potencial e limitações do *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi® na preparação de micropartículas a partir de cinco matrizes poliméricas diferentes (goma arábica, maltodextrina, poli(álcool vinílico), amido modificado e proteína do soro do leite) . Além da heterogeneidade na distribuição de tamanhos das micropartículas obtidas para diferentes matrizes poliméricas, os autores verificaram que o tamanho das partículas variou de acordo com a região do cilindro coletor, onde as mesmas foram depositadas, devido à ação repulsiva do campo elétrico, efeito chamado de segregação de partículas. Os autores mencionaram que as partículas maiores foram depositadas preferencialmente na parte superior do cilindro, enquanto as partículas menores foram depositadas preferencialmente na parte inferior do cilindro. Isso evidencia, de acordo com os autores, que há uma relação entre a magnitude da força eletrostática, o tamanho das micropartículas e a sua densidade de carga superficial. O campo elétrico constante originado no centro do cilindro lançará as micropartículas maiores, geralmente com menor densidade de carga superficial, a uma distância menor da parede do cilindro, uma vez o campo elétrico varia proporcionalmente com a carga da partícula e é inversamente proporcional ao quadrado da distância. Em contrapartida, as partículas menores e com maior densidade de cargas serão depositadas a uma distância maior do centro do cilindro, ou seja, na sua parte inferior.

Ainda com relação à heterogeneidade da distribuição de tamanhos das partículas, Broichsitter, Strehlow e Kissel (2015) também relataram que alguns parâmetros de secagem, como a utilização do bico atomizador de maior diâmetro (7 μ m) e a taxa de aspersão máxima (100%) contribuem para a formação de micropartículas com maior diâmetro. Além disso, os autores também verificaram que dispersões menos concentradas, embora contribuam para a formação de micropartículas com menor diâmetro, proporcionam uma distribuição de tamanho de partículas mais heterogênea. Isso está relacionado, segundo os autores, ao fato de dispersões mais concentradas apresentarem uma maior viscosidade, o que exige uma menor taxa de transferência da dispersão desde o

início do seu bombeamento até o bico atomizador. O fluxo laminar desde o bombeamento da dispersão até sua atomização minimiza as chances de colisões e de coalescência de gotículas durante a atomização, favorecendo a formação de partículas com distribuição de tamanho mais uniforme e a possibilidade de uma aglomeração menos acentuada.

Com relação ao formato das micropartículas de quitosana pura e de micropartículas híbridas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno, ambas apresentaram um formato esférico e uma superfície rugosa, especialmente as micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno, as quais também apresentaram uma aglomeração mais acentuada. As rugosidades presentes na superfície das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) são caracterizadas por pequenas protuberâncias, as quais podem indicar que as partículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) carregados com cetoprofeno modificaram a superfície das micropartículas de quitosana (**Figura 4.22**). Quanto ao menor diâmetro das micropartículas com o aumento da concentração de nanogéis (amostras R50 e R51), uma hipótese plausível que pode justificar esse resultado é a possível diminuição de viscosidade da mistura quitosana-nanogéis ao aumentar a concentração de nanogéis, comparada à viscosidade da solução de quitosana pura. A formação do complexo polieletrólítico entre quitosana e nanogéis aparentemente diminuiu a viscosidade do sistema, o que provavelmente favoreceu uma maior taxa de transferência de líquido para o bico atomizador, durante o bombeamento da dispersão. Isso pode ter resultado no desprendimento de gotículas menores pela malha vibratória, devido à diminuição da tensão superficial do líquido atomizado, o que provocou o aumento da energia livre na interface gás-líquido, e consequentemente, contribuiu para a formação de partículas menores (BROICHSITTER et al., 2012; BROICHSITTER; STREHLOW; KISSEL, 2015).

A **Tabela 4.8** apresenta os valores de diâmetro médio de micropartículas secas de quitosana e de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno medidos através do software Image J®. Os resultados confirmam a heterogeneidade da distribuição de tamanhos das micropartículas de quitosana pura e de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno. Esses resultados de MEV mostram a dificuldade da obtenção do diâmetro de partícula para as micropartículas híbridas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno por causa da aglomeração acentuada. Nesse caso, um estudo mais detalhado da influência dos parâmetros de processo no diâmetro de partículas é necessário para controlar o tamanho de micropartículas secas.

Tabela 4.8- Diâmetro médio de micropartículas de quitosana e de quitosana/poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA)-cetoprofeno preparadas via secagem por pulverização

Amostras ¹	D_n (μm) ²	σ (μm) ³
Q95	4,297	0,976
Q95 ^a R50 ^b -40% ^c	0,739	0,580
Q95 ^a R50 ^b -70% ^c	& ⁴	& ⁴
Q95 ^a R51 ^b -40% ^c	0,882	0,741
Q95 ^a R51 ^b -70% ^c	0,652	0,426

¹Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 e R51 nanogéis sintetizados com 4,5% e 3% de AI; 2% e 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL, respectivamente. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana.

² Diâmetro de partícula. ³ Desvio padrão. ⁴ &: não foi possível determinar.

Fonte: Próprio autor.

A heterogeneidade da distribuição de tamanhos de partículas e a diversidade de morfologia também foram pesquisadas por Arpagaus (2012). O autor revisou trabalhos na literatura que utilizaram o *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi® para a formação de micropartículas constituídas de diferentes matrizes poliméricas, a fim de definir as principais vantagem e características dos produtos finais que são obtidas por esse equipamento. Quanto ao uso de diferentes bicos atomizadores e à concentração da dispersão de sólidos, os estudos dos autores corroboraram os resultados obtidos por Broichsitter, Strehlow e Kissel (2015). E quanto à morfologia de micropartículas, os autores relataram diversas características morfológicas: partículas ligeiramente esféricas, murchas ou com cavidades, enrugadas, com formato de rosca ou ainda uma mistura dessas características. O estudo do autor também confirma que a adição de surfactantes contribui para a formação de partículas esféricas, promovendo o equilíbrio entre tensão superficial e forças viscosas durante a secagem das gotículas. Lee et al. (2011) utilizaram o *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi® para a produção de micropartículas de albumina de soro bovino (BSA), uma proteína terapêutica, e constataram que o diâmetro do bico atomizador e a concentração de surfactante foram os parâmetros que mais influenciaram na morfologia das micropartículas.

4.3.2 Determinação da eficiência de recuperação das micropartículas secas por pulverização

A eficiência de recuperação (ER) foi calculada de acordo com a equação (5), e os resultados estão apresentados na **Tabela 4.9**. É observado que a eficiência de recuperação das micropartículas foi alta para todos os ensaios de pulverização. Porém isso só foi possível devido à utilização de algumas condições de operação próximas à capacidade máxima do equipamento, ou seja, como taxa de aspersão 100%, temperatura de secagem de 120°C, fluxo de gás de 132 l/min. Isso evitou a deposição de micropartículas secas na câmara de atomização ou na parte superior do bico atomizador, e também potencializou a secagem das micropartículas para que o pó seco fosse mais facilmente removido do cilindro coletor.

Os índices de recuperação podem variar bastante, pois além de dependerem dos parâmetros de pulverização adotados para o processo, também dependem das propriedades físico-químicas da dispersão e de sua concentração (OLIVEIRA et al., 2013). Porém os resultados confirmam a premissa de que o pulverizador *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi® pode proporcionar altos índices de recuperação de amostra seca (ARPARGAUS et al., 2012).

Tabela 4.9- Eficiência de recuperação (ER) de micropartículas de quitosana e das micropartículas híbridas, quitosana/poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA)-cetoprofeno preparadas via secagem por pulverização

Amostra ¹	ER (%) ²
Q95	82,85
Q95 ^a R50 ^b -40% ^c	92,47
Q95 ^a R50 ^b -70% ^c	91,21
Q95 ^a R51 ^b -40% ^c	85,64
Q95 ^a R51 ^b -70% ^c	87,45

¹Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 e R51 nanogéis sintetizados com 4,5% e 3% de AI; 2% e 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL, respectivamente. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana. ² Eficiência de recuperação.

Fonte: Próprio autor.

4.3.3 Determinação da densidade de cargas na superfície (potencial zeta) de micropartículas obtidas via pulverização

A **Figura 4.26** mostra os valores de potencial zeta (ζ) em pH 1,2 (pH estomacal), 4,5 (pH da dispersão polimérica) e 7,4 (pH intestinal) para as micropartículas de quitosana pura (Q95) e para as micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis (Q95^aR50^b-40%^c, Q95^aR50^b-70%^c, Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c). É observado que as micropartículas de quitosana pura apresentaram potencial zeta positivo em pH 1,2 e em pH 4,5, confirmando a protonação de grupos amino nesses valores de pH. Porém em pH 7,4 as micropartículas de quitosana pura apresentaram potencial zeta negativo, indicando que os grupos amino estão desprotonados e confirmando resultados da literatura, os quais evidenciam a menor solubilidade da quitosana neste pH (SANTOS; BUKZEM; CAMPANA-FILHO, 2016; CHANG et al., 2015). O potencial negativo pode estar relacionado à presença de contraíons (OH^-) no meio, especialmente provenientes da solução NaOH (1M) utilizada no ajuste do pH durante a etapa de gelificação iônica. Chang et al. (2015) também obtiveram resultado similar para análise de potencial zeta de quitosana com massa molar ($\bar{M}_w$) de 72,1 kDa e GD = 95%.

Analizando o potencial zeta das micropartículas de quitosana incorporadas com os nanogéis (quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno), Q95^aR50^b-40%^c, Q95^aR50^b-70%^c, Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c, pode-se observar que o aumento do pH causou a diminuição do potencial zeta devido à ionização dos grupos carboxílicos do ácido itacônico, como já foi discutido, e devido à desprotonação dos grupos amino da quitosana. É observado no pH 4,5, pH utilizado na gelificação iônica, que as micropartículas Q95^aR50^b-70%^c e Q95^aR51^b-70%^c, isto é, com maior concentração de nanogéis com relação à massa de quitosana, apresentaram um potencial zeta mais próximo de zero, quando comparado as micropartículas Q95^aR50^b-40%^c e Q95^aR51^b-40%^c, o que era esperado, uma vez que as micropartículas Q95^aR50^b-40%^c e Q95^aR51^b-40%^c possuem uma menor quantidade de nanogéis nas misturas poliméricas. Assim, quanto menor a quantidade de nanogéis, mais grupos amino protonados estarão disponíveis para interações, e consequentemente, mais positiva será a carga das micropartículas. E também pode ser observado que todas as micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno apresentaram um potencial zeta menor do que o das micropartículas de

quitosana pura. Esses resultados indicam que houve a formação de um complexo polieletrólítico entre quitosana e nanogéis durante a gelificação iônica e que esse complexo não se desfez após a formação de micropartículas durante a secagem por pulverização. Comparando o potencial zeta quase nulo de micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno com o potencial zeta negativo de nanogéis R50 e R51, em pH 4,5 (**Figura 4.9**), é possível sugerir que os nanogéis foram recobertos pela matriz de quitosana durante a secagem por pulverização, uma vez que o potencial zeta mede apenas a densidade de carga superficial.

Figura 4.26- Potencial zeta em pH 1,2, 4,5 e 7,4 das micropartículas de quitosana pura e das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno obtidas via secagem por pulverização

Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 e R51 nanogéis sintetizados com 4,5% e 3% de AI; 2% e 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL, respectivamente. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana.

Fonte: Próprio autor.

4.3.4 Difração de raios X (DRX)

A **Figura 4.27** compara os difratogramas obtidos para o cetoprofeno puro, nanogéis contendo cetoprofeno encapsulado (R50 e R51) e para as micropartículas de quitosana pura (Q95) e de quitosana incorporadas de nanogéis ($Q95^aR50^b-40\%^c$, $Q95^aR50^b-70\%^c$, $Q95^aR51^b-40\%^c$ e $Q95^aR51^b-70\%^c$) preparadas via secagem por pulverização. O cetoprofeno puro, como já discutido anteriormente, apresenta-se na forma cristalina com dois picos mais intensos observados em $8,4^\circ$ e $10,4^\circ$. Não foi observada cristalinidade nos difratogramas dos nanogéis R50 e R51, indicando que houve amorfização do cetoprofeno encapsulado e interação com a matriz polimérica, ou seja, o cetoprofeno está molecularmente disperso no interior da matriz polimérica. Nos difratogramas referentes às micropartículas híbridas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno também não foram observados picos de cristalinidade referentes ao cetoprofeno, apenas picos referentes à estrutura semicristalina da quitosana.

No difratograma de micropartículas de quitosana pura (Q95) são observados vários picos, especialmente em $14,5^\circ$ e $20,5^\circ$, que evidenciam a semicristalinidade do polissacarídeo, a qual está relacionada à sua fonte de origem, a quitina, altamente cristalina. Além disso, algumas impurezas como proteínas residuais podem não ser eliminadas no processo de purificação contribuindo para aumento da cristalinidade da quitosana (SANTOS et al., 2003). Mesquita et al. (2015) e Reinas et al. (2014) observaram cristalinidade no difratograma de micropartículas de quitosana pura, com grau de desacetilação (GD) de 85% e 75%, respectivamente, preparadas via secagem por pulverização. Os picos de cristalinidade foram observados em 10° e 20° e os autores afirmaram que esses picos são referentes à presença de cristais hidratados e anidros de quitosana. Santos, Bukzem e Campana-filho (2016) estudaram a cristalinidade da mesma quitosana utilizada neste projeto de dissertação ($\bar{M}_v = 85\text{kDa}$ e $\text{GD} = 95\%$) e também observaram a cristalinidade do copolímero puro em $10,9^\circ$ e $20,2^\circ$. Xiao et al. (2012) explicam que, embora a quitosana passe por um processo de secagem, conterá aproximadamente 5% de água fortemente ligada a sua estrutura. A incorporação dessas moléculas de água à estrutura cristalina da quitosana contribui para que o polímero deva conter uma estrutura polimórfica também denominada cristais hidratados, caracterizada por um pico largo em aproximadamente 10° . O outro pico que aparece em aproximadamente 20° está relacionado à estrutura cristalina da quitosana mantida principalmente por ligações

hidrogênio intramoleculares entre os grupos amino e intermoleculares entre os grupos hidroxila.

É observado também nos difratogramas de raios X que as micropartículas preparadas com nanogéis R51 ($Q95^aR51^b-40\%^c$ e $Q95^aR51^b-70\%^c$) apresentaram uma menor cristalinidade comparadas às micropartículas preparadas com nanogéis R50 ($Q95^aR50^b-40\%^c$ e $Q95^aR50^b-70\%^c$). O nanogel R51 possui partículas com maior diâmetro e provavelmente, um menor número de grupos carboxílicos ionizados na sua superfície do que as partículas do nanogel R50. Isso sugere que o seu maior volume possa romper mais ligações hidrogênio entre as cadeias de quitosana e sua menor quantidade de cargas na superfície possa formar um complexo polieletrólítico mais fraco com o polissacarídeo, ou seja, com menos interações eletrostáticas entre as cadeias poliméricas ionizadas. Assim as cadeias de quitosana estarão mais flexíveis, e consequentemente, sua cristalinidade diminui. Além disso, as partículas do nanogel R51, em decorrência de seu maior diâmetro e reticulação, podem conter maior quantidade de moléculas de água presas às macrocadeias, o que será discutido nos resultados de calorimetria exploratória diferencial. Isso contribui para que as micropartículas $Q95^aR51^b-40\%^c$ e $Q95^aR51^b-70\%^c$ contenham um percentual de umidade maior após a secagem, aumentando o efeito plastificante da água, o qual aumenta a flexibilidade das cadeias poliméricas e reduz a temperatura de transição vítrea (DHAWADE; JAGTAP, 2012). Também é observado que o processo de secagem por pulverização no *Nano Spray Dryer B-90* da Büchi® não amorfizou completamente a matriz de quitosana, ou seja, os picos característicos de cristalinidade da quitosana também aparecem nos difratogramas de raios X das micropartículas de quitosana e de quitosana-poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA)/cetoprofeno, devido ao fato do equipamento trabalhar em condições de operação brandas. Portanto esses resultados mostram claramente que neste processo de preparação de micropartículas híbridas em pó de quitosana/poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA)-cetoprofeno, o qual envolve várias etapas, o cetoprofeno é amorfizado, mas a quitosana continua intacta. A cristalinidade da quitosana não é alterada, mesmo depois de ser solubilizada, durante a etapa da preparação das misturas de polímeros e na última etapa, ou seja, na pulverização.

Figura 4.27- Difratomogramas de raios X do cetoprofeno puro, dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno, das micropartículas de quitosana pura e das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno

Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 e R51 nanogéis sintetizados com 4,5% e 3% de AI; 2% e 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL, respectivamente. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana.

Fonte: Próprio autor.

4.3.5 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada a fim de estudar mudanças no comportamento térmico das micropartículas de quitosana com a incorporação de partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) carregadas com cetoprofeno. Foram realizadas duas corridas para cada amostra, com o objetivo de remover o histórico térmico das amostras. Porém apenas os dados do segundo ciclo de aquecimento são apresentados na **Figura 4.28**, exceto para a amostra de quitosana, para a qual são apresentados os dados do primeiro e do segundo ciclo de aquecimento.

Figura 4.28- Termogramas de DSC das micropartículas de quitosana e das micropartículas de quitosana- poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA)/cetoprofeno

Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 e R51 nanogéis sintetizados com 4,5% e 3% de AI; 2% e 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL, respectivamente. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana. T_g = temperatura de transição vítrea. T_m = temperatura de fusão.

Figura 4.28- Termogramas de DSC das micropartículas de quitosana e das micropartículas de quitosana- poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA)/cetoprofeno

Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 e R51 nanogéis sintetizados com 4,5% e 3% de AI; 2% e 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL, respectivamente. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana. T_g = temperatura de transição vítrea. T_m = temperatura de fusão.

Fonte: Próprio autor.

Analisando o primeiro ciclo de aquecimento das micropartículas de quitosana pura (Q95) são observadas duas transições endotérmicas de primeira ordem em 60,4°C e 164,9 °C. A primeira transição pode indicar a perda de méculas de água fracamente ligadas às micropartículas de quitosana e a segunda a sua temperatura de fusão (T_m) (SANTOS et al., 2003; EMMANUEL et al., 2015). Nesse primeiro ciclo de aquecimento também é observada uma transição endotérmica de segunda ordem em 143,2°C, a qual se trata da temperatura de transição vítrea da quitosana (T_g) (PARIZE et al., 2012; ZHAO et al., 2011). Analisando os resultados do termograma obtido para o segundo ciclo de aquecimento da amostra de micropartículas de quitosana (Q95), é observada a presença de uma transição térmica de segunda ordem em 136°C, a qual se refere à temperatura de transição vítrea (T_g) da quitosana. Essa pequena diferença entre T_g 's obtidas no primeiro e segundo ciclo de aquecimento das micropartículas de quitosana pode ser atribuída ao efeito plastificante da água, o qual pode causar uma redução da T_g (DHAWADE; JAGTAP, 2012). Na literatura são reportados diversos valores de T_g para a quitosana, os quais variam desde -23°C a 203°C, dependendo do teor de umidade da amostra final, a qual dificulta a

obtenção da T_g (BOCOURT et al., 2014; SANTOS et al., 2003; DHAWADE; JAGTAP, 2012). PARIZE et al. (2012) obtiveram uma T_g de 100,4°C para uma quitosana pura com grau de desacetilação de 86% e massa molar ($\bar{M}_w$) de 122,3 kDa. Porém para micropartículas de quitosana preparadas via secagem por pulverização, os autores obtiveram uma T_g de 125°C. Os autores sugeriram que a diferença entre as T_g 's da quitosana pura e da quitosana pulverizada está relacionada à adição de ácido acético na preparação da solução de quitosana. O próton do ácido acético contribui para o aumento da rigidez das macrocadeias de quitosana em solução, aumentando a T_g .

Como já conhecido, a quitosana é um polímero higroscópico e semicristalino derivado da quitina, um biopolímero de estrutura cristalina. O processo de desacetilação da quitina, ou seja, a substituição dos grupos acetamido por grupos amino confere semicristalinidade à quitosana. Os grupos amino são responsáveis pelas interações da quitosana com moléculas de água, portanto quanto mais desacetilada a quitosana, maior o número dessas interações (DASH et al., 2011). A água pode estar presente em três formas entre as macrocadeias: moléculas de água livres de interações com as macrocadeias, fracamente ligadas às macrocadeias com ponto de fusão abaixo do ponto de fusão da água pura e fortemente ligadas às macrocadeias. A estrutura nativa dos biopolímeros é mantida em uma forma estérica na presença de água, e a evaporação dessas moléculas de água durante o aquecimento, leva ao rompimento dessa estrutura estérica, afetando propriedades do material como reologia, propriedades de transporte e temperatura de transição vítrea (T_g) (DHAWADE; JAGTAP, 2012). No caso da transição vítrea, a água pode funcionar como um plastificante, diminuindo a T_g do polímero, como já discutido (DHAWADE; JAGTAP, 2012). Portanto um alto grau de desacetilação, uma alta higroscopicidade, uma elevada massa molar e a cristalinidade podem dificultar a obtenção da T_g (DHAWADE; JAGTAP, 2012; BOCOUT et al., 2013; MILOSAVLJEVIĆ et al., 2009). A presença de impurezas tais como proteínas residuais, as quais podem permanecer na quitosana após o processo de purificação, pode justificar o aparecimento de eventos térmicos durante a análise de DSC, como a transição térmica que aparece em -16,8°C (SANTOS et al., 2003).

Nos termogramas das micropartículas Q95^aR50^b-40%^c, Q95^aR50^b-70%^c, Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c, é observado que a T_g dos nanogéis R50 (37,5°C) e R51 (26,6°C) diminuiu em todas as misturas de polímeros, conforme os resultados apresentados na **Tabela 4.10**. É observado também que a T_g da quitosana se tornou quase imperceptível. Utilizando o Software TA Analysis 2000, da TA Instruments®, foi possível obter a T_g para

a quitosana, embora a região de transição de segunda ordem esteja pouco perceptível nos termogramas. Sugere-se que essa diminuição da T_g das partículas dos nanogéis R50 e R51 foi causada devido ao aumento da higroscopicidade das partículas ao incorpora-las na matriz de quitosana, uma vez que mesmo extensivamente seca, a quitosana pode apresentar moléculas de água ligadas fortemente a suas cadeias (XIAO et al., 2012). Além disso, o processo de secagem por pulverização utiliza temperatura máxima de secagem de 120°C, contribuindo para a permanência de moléculas de água no interior da matriz polimérica. Nesse caso, a água também teve uma função de plastificante nas amostras analisadas (CHAN et al., 2015). A **Tabela 4.10** mostra os valores de T_g obtidos para as micropartículas de quitosana pura e de quitosana incorporadas de diferentes proporções de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado.

Tabela 4.10- Temperatura de transição vítrea (T_g) de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado, de micropartículas de quitosana pura e de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno

Amostra	Razão em massa quitosana:nanogel	$T_m(^{\circ}\text{C})^1$	$T_{g1} (^{\circ}\text{C})^2$	$T_{g2} (^{\circ}\text{C})^3$
R50	0:1		37,5	-
R51	0:1		26,6	-
Q95- 1º ciclo de aquecimento	1:0	164,9	-	143,2
Q95- 2º ciclo de aquecimento	1:0	-	-	136,0
Q95 ^a R50 ^b -40% ^c	5:2	-	-14,6	63,2
Q95 ^a R50 ^b -70% ^c	10:7	-	-24,7	67,5
Q95 ^a R51 ^b -40% ^c	5:2	-	-30,3	NO ⁴
Q95 ^a R51 ^b -70% ^c	10:7	-	-27,5	48,5

¹ T_m : temperatura de fusão da quitosana. ² T_{g1} : refere-se à temperatura de transição vítrea dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA). ³ T_{g2} : refere-se à temperatura de transição vítrea da quitosana. ⁴NO: T_g não obtida.

Fonte: Próprio autor.

É observado na **Tabela 4.10** para as micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno (Q95^aR50^b-40%^c, Q95^aR50^b-70%^c, Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c), que a incorporação de partículas de nanogel na matriz de quitosana causou uma diminuição das temperaturas de transição vítrea dos nanogéis (T_{g1}) e da quitosana (T_{g2}), comparadas às temperaturas de transição vítrea dos polímeros antes da mistura, obtidas individualmente. Esse efeito pode estar relacionado ao aumento da quantidade de moléculas de água presas na matriz polimérica após a pulverização das micropartículas. A higroscopicidade da quitosana associada à formação do complexo polieletrólítico entre suas cadeias e das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contribuem para o aprisionamento de maior quantidade de moléculas de água,

dificultando sua evaporação durante a secagem, e consequentemente, intensifica o efeito plastificante da água reduzindo as T_g 's referentes aos polímeros que compõem a matriz híbrida. Para as micropartículas Q95^aR51^b-40%^c não foi possível obter a T_g da quitosana, provavelmente devido ao efeito plastificante das moléculas de água presentes na amostra.

Também é notado que o aumento da concentração do nanogel R50 com relação à massa de quitosana para as micropartículas Q95^aR50^b-40%^c, Q95^aR50^b-70%^c, causou a diminuição da temperatura de transição vítrea do nanogel R50 (T_{g1}) e um pequeno aumento da temperatura de transição vítrea da quitosana (T_{g2}). A diminuição da T_{g1} pode estar relacionada ao aumento de interações com moléculas de água no sistema, como já discutido, e o aumento da T_{g2} , embora pouco significativo, é esperado devido à possibilidade de haver um maior número de interações eletrostáticas entre matrizes poliméricas nas micropartículas Q95^aR50^b-70%^c, formando um complexo polieletrólítico mais forte. Comparando a T_{g2} das micropartículas Q95^aR50^b-70%^c e Q95^aR51^b-70%^c, para as micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno preparadas com partículas de maior diâmetro hidrodinâmico (nanogel R51), a T_{g2} foi menor do que a T_{g2} das micropartículas preparadas com partículas de menor diâmetro hidrodinâmico (nanogel R50). Como explicado nos resultados de DRX, os nanogéis R51 apresentam maior tamanho e podem romper mais ligações hidrogênio entre as macrocadeias de quitosana, contribuindo para a redução da sua cristalinidade e para o aumento da flexibilidade das cadeias, consequentemente, a T_g diminui. Além disso, o nanogel R50 apresenta maior densidade de cargas negativas na superfície, o que também contribui para a formação de um complexo polieletrólítico mais estável com a quitosana, diminuindo a flexibilidade de suas cadeias e a sua T_g (YOU et al., 2016).

4.3.6 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Além da análise qualitativa dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e da investigação da interação de cetoprofeno com a matriz polimérica dos nanogéis, a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para caracterizar, qualitativamente, as micropartículas de quitosana e de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno e as interações entre as matrizes poliméricas. As **Figuras 4.29 e 4.30** apresentam os espectros de FTIR dos nanogéis R50 e R51, das micropartículas de quitosana pura (Q95) e das micropartículas híbridas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)/cetoprofeno preparadas via secagem por pulverização, Q95^aR50^b-40%^c, Q95^aR50^b-70%^c, Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c)

Os espectros de FTIR dos nanogéis R50 (**Figura 4.29**) e R51 (**Figura 4.30**), os quais contém cetoprofeno, mostram todas as bandas referentes aos grupos químicos identificados nos espectros de FTIR das partículas dos nanogéis obtidos nas reações R8 e R1, sem cetoprofeno, respectivamente, apresentados na **Figura 4.14**.

O espectro das micropartículas de quitosana pura (Q95), apresentado nas **Figuras 4.29 e 4.30**, exibiu uma banda larga no intervalo 3807-3014 cm⁻¹ referente ao estiramento axial da hidroxila (O-H), o qual se sobrepõe à banda de estiramento da interação N-H. Uma banda fraca é observada em 2991 cm⁻¹ e pode ser atribuída ao estiramento C-H e as bandas 1653, 1587, 1427, 1297 cm⁻¹ referem-se: a vibrações de alongamento da ligação C=O, a vibrações de dobramento da ligação N-H, a vibrações de alongamento do grupo amida (-NHCO) e a vibrações de alongamento da ligação C-N, respectivamente. As bandas 1161, 1111 e 1069 cm⁻¹, que se encontram apenas circuladas no espectro, referem-se a vibrações de alongamento da ligação C-O das unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose da quitosana. As bandas 943 e 667 cm⁻¹ também se referem a vibrações de alongamento C-O da estrutura polissacarídica da quitosana (SANTOS; BUKZEM; CAMPANA-FILHO, 2016; REINAS et al., 2014; NETO et al., 2014; XIAO et al., 2012).

Nos espectros de FTIR das micropartículas Q95^aR50^b-40%^c e Q95^aR50^b-70%^c, apresentados na **Figura 4.29**, é observado que o pico 1587 cm⁻¹ referente a vibrações de dobramento da ligação N-H dos grupos amino, que aparece no espectro das micropartículas de quitosana pura (Q95), é deslocado para 1670 cm⁻¹. Essa mesma banda

também pode estar sobreposta pela banda 1647 cm^{-1} referente a vibrações de estiramento da ligação C=O do anel de caprolactama e do EGDMA que aparece no espectro do nanogel R50. Também é notado nesse espectro que a banda em 1747 cm^{-1} , referente a vibrações de estiramento da ligação C=O do grupo carboxílico do ácido itacônico, aparece com menor intensidade nos espectros das micropartículas $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R50}^{\text{b}}\text{-40}\%^{\text{c}}$ e $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R50}^{\text{b}}\text{-70}\%^{\text{c}}$. Isso indica que os grupos carboxílicos do ácido itacônico interagiram eletrostaticamente com os grupos amino da quitosana, formando um polieletrólito complexo (YOU et al., 2016; ABIOYE; ISSAH; KOLA-MUSTAPHA, 2015). Além disso, as vibrações de alongamento do grupo amida (-NHCO) observadas no espectro de micropartículas de quitosana pura (Q95) em 1427 cm^{-1} aparecem com menor intensidade nos espectros das micropartículas $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R50}^{\text{b}}\text{-40}\%^{\text{c}}$ e $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R50}^{\text{b}}\text{-70}\%^{\text{c}}$ em 1489 cm^{-1} . Esse deslocamento e a diminuição de intensidade das vibrações de alongamento dos grupos amida da quitosana, indicam que esses grupos podem ter interagido por ligações hidrogênio com os nanogéis, facilitando a incorporação dessas partículas na matriz de quitosana (FIORI et al., 2014). Uma banda centrada em 2462 cm^{-1} também aparece nos espectros das micropartículas de $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R50}^{\text{b}}\text{-40}\%^{\text{c}}$ e $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R50}^{\text{b}}\text{-70}\%^{\text{c}}$, e pode estar associada a diminuição de intensidade das vibrações de estiramento da ligação C=O dos grupos carboxílicos do ácido itacônico, as quais aparecem em 1747 cm^{-1} com maior intensidade no espectro do nanogel R50. Isso sugere a possível formação de grupos amida por meio da reação entre grupos carboxílicos dos nanogéis e grupos amino da quitosana por desidratação durante o processo de secagem por atomização (ABIOYE; ISSAH; KOLA-MUSTAPHA, 2015).

Os espectros de FTIR das micropartículas $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R51}^{\text{b}}\text{-40}\%^{\text{c}}$ e $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R51}^{\text{b}}\text{-70}\%^{\text{c}}$, apresentados na **Figura 4.30**, também apresentam deslocamento da banda referente às vibrações de dobramento da interação N-H das cadeias de quitosana (1597 cm^{-1}) para 1671 cm^{-1} . A banda 1747 cm^{-1} referente a vibrações de estiramento da ligação C=O dos grupos ácidos carboxílicos do ácido itacônico, também aparece com menor intensidade no espectro das micropartículas $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R51}^{\text{b}}\text{-40}\%^{\text{c}}$ e $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R51}^{\text{b}}\text{-70}\%^{\text{c}}$. Também é observado nos espectros das micropartículas $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R51}^{\text{b}}\text{-40}\%^{\text{c}}$ e $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R51}^{\text{b}}\text{-70}\%^{\text{c}}$ uma banda centrada em 2494 cm^{-1} , a qual, assim como a banda centrada em 2462 cm^{-1} nos espectros $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R50}^{\text{b}}\text{-40}\%^{\text{c}}$ e $\text{Q95}^{\text{a}}\text{R50}^{\text{b}}\text{-70}\%^{\text{c}}$, sugere a possível formação de grupos amida devido ao processo de desidratação durante a secagem por pulverização das micropartículas.

Em todos os espectros referentes às micropartículas de quitosana/poli(NVCL-co-AI-co-EGDMA) também são notadas as vibrações de estiramento C-H em 2991 cm^{-1}

sobrepostas pela banda larga, entre 3807-3014 cm^{-1} , referente ao estiramento axial de hidroxilas (O-H) e às ligações hidrogênio entre micropartículas e moléculas de água. Isso indica que mesmo após a secagem por pulverização, as micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e de quitosana pura podem conter umidade, confirmando os resultados obtidos por DSC e DRX. Por último, também é notado o alargamento das bandas entre 1465 e 812 cm^{-1} referentes às estruturas polissacarídicas (C-O) da quitosana e às vibrações de alongamento C-O dos nanogéis (SANTOS; BUKZEM; CAMPANA-FILHO, 2016; NETO et al., 2014). As vibrações de alongamento C-N do anel de caprolactama dos nanogéis R50 e R51, observadas em 1483 e 1482 cm^{-1} , respectivamente, encontram-se sobrepostas pela banda 1670 cm^{-1} , referente a vibrações de dobramento da interação N-H.

Figura 4.29- Espectros de FTIR dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (amostra R50), das micropartículas de quitosana (Q95) e das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno (amostras Q95^aR50^b-40%^c e Q95^aR50^b-70%^c)

Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 nanogéis sintetizados com 4,5% de AI; 2% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana.

Fonte Próprio autor.

Figura 4.30- Espectros de FTIR dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) contendo cetoprofeno encapsulado (amostra R50), das micropartículas de quitosana (Q95) das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno (amostras Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c)

Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R51 nanogéis sintetizados com 3% de AI; 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana.

Fonte: Próprio autor.

4.3.7 Testes de liberação *in vitro* de cetoprofeno a partir de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)

Os testes de liberação *in vitro* de cetoprofeno a partir das amostras Q95^aR50^b-40%^c, Q95^aR50^b-70%^c, Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c, foram realizados em pH 7,4 na temperatura de 37°C, devido ao fato desse pH ter se mostrado a melhor condição para a liberação de cetoprofeno a partir das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) e da temperatura de 37°C ser superior à LCST da PNVCL, como já discutido. Os gráficos dos ensaios de liberação estão apresentados nas **Figuras 4.31 e 4.32**. As concentrações de cetoprofeno no meio de liberação foram calculadas utilizando um espectrofotômetro UV-visível e as curvas de calibração construídas a partir de soluções tampão de pH 1,2 e 7,4.

Figura 4.31- Liberação *in vitro* de cetoprofeno em pH 7,4 a 37°C a partir das micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) (amostras Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c)

Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R51 nanogéis sintetizados com 3% de AI; 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL,. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana.

Fonte: Próprio autor.

Figura 4.32- Liberação *in vitro* de cetoprofeno em pH 7,4 a 37°C a partir de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) (Q95^aR50^b-40%^c e Q95^aR50^b-70%^c)

Q95: micropartículas de quitosana pura. a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 nanogéis sintetizados com 4,5% de AI; 2% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana.

Fonte: Próprio autor.

Em todos os testes de liberação realizados em pH 7,4 na temperatura de 37°C, a incorporação de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) na matriz de quitosana levou à diminuição da taxa de liberação de cetoprofeno para o meio, quando comparado com os resultados obtidos para a liberação do fármaco a partir dos nanogéis puros, R51 (**Figura 4.31**) e R50 (**Figura 4.32**). Isso ocorreu devido à insolubilidade da quitosana em pH superior a 7,0 (SANTOS; BUKZEM; CAMPANA-FILHO, 2016). Acima do pH 7,0 seus grupos amino desprotonados podem interagir com as moléculas de água do meio por ligações hidrogênio, retendo-as entre as suas cadeias, constituindo portanto uma barreira para a difusão do fármaco, levando ao retardamento de sua liberação (FAN et al., 2012; BERGER et al., 2004; MESQUITA et al., 2015). Assim, as moléculas de cetoprofeno retidas entre as macrocadeias das partículas de nanogel, podem ser adsorvidas pela matriz de quitosana, interagir hidrofobicamente com a matriz, ocorrer reação ácido-base entre fármaco e quitosana ou até mesmo eletrostaticamente, porém em menor intensidade, uma

vez que a quitosana, em pH 7,4, possui poucos grupos amino protonados para interagir com o grupo carboxílico ionizado das moléculas de cetoprofeno ($pK_a = 4,6$) (ABIOYE; ISSAH; KOLA-MUSTAPHA, 2015). A temperatura de 37°C favoreceu o aumento da solubilidade do cetoprofeno em meio aquoso e a expulsão das moléculas de cetoprofeno pelas macrocadeias de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA). Como já explicado, em pH 7,4 os grupos carboxílicos do ácido itacônico estão protonados e as partículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), aumentam de volume devido a repulsão entre os grupos carboxílicos ionizados. Na temperatura de 37°C, acima da LCST da PNVCL, interações hidrofóbicas entre cadeias de PNVCL são dominantes e levam à contração das cadeias de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), o que impulsiona a saída das moléculas de água juntamente com o cetoprofeno para fora das cadeias ionizadas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA). Além disso, vale lembrar que nessas condições os grupos carboxílicos das moléculas de cetoprofeno estão ionizados, podendo haver repulsão entre moléculas do fármaco e os grupos carboxílicos ionizados de ácido itacônico, favorecendo a liberação do fármaco (ASOH et al., 2006; LIU et al., 2014). No final dessa discussão, na **Figura 4.33**, é apresentado um esquema ilustrativo para o mecanismo de liberação do cetoprofeno no pH 7,4 e 1,2 e na temperatura de 37°C a partir das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno obtidas via secagem por pulverização.

A matriz de quitosana também pode diminuir a capacidade de intumescimento dos nanogéis, alterando a sua cinética de liberação por meio da limitação do espaço para expansão de volume dos nanogéis, consequentemente, a liberação do fármaco é retardada (JANKAEW et al., 2015). A expansão de volume ou intumescimento das partículas de nanogel, como já explicado, é ocasionada, principalmente, pela repulsão entre os grupos carboxílicos ionizados do ácido itacônico. Nesse caso, as interações iônicas entre quitosana e nanogéis não exerceriam um efeito tão expressivo sobre a diminuição da capacidade de intumescimento dos nanogéis, uma vez que as cadeias de quitosana encontram-se pouco protonadas em pH 7,4. Quanto ao efeito da temperatura, como os testes de liberação para as micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno foram realizados na temperatura de 37°C, ou seja, acima da LCST da PNVCL, essa condição não estimula o intumescimento das partículas de nanogel, e sim sua contração devido ao maior número de interações hidrofóbicas entre as cadeias de PNVCL. Porém a molhabilidade da superfície das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno pode ser outro fator que contribui para o retardo da liberação de cetoprofeno, uma vez que

as moléculas de água percorrem um maior caminho entre as macrocadeias de quitosana até atingirem as partículas dos nanogéis no interior da matriz para estimularem o seu intumescimento. Porém essa hipótese exige um estudo mais aprofundado.

É observado que, após 52h de teste, as micropartículas preparadas com 40% em massa de nanogéis, Q95^aR50^b-40%^c e Q95^aR51^b-40%^c, liberaram percentuais de cetoprofeno encapsulado maiores do que as micropartículas preparadas com 70% em massa de nanogéis Q95^aR50^b-70%^c e Q95^aR51^b-70%^c (**Tabela 4.11**). Isso sugere que a força do complexo eletrolítico formado entre quitosana e nanogéis retardou a difusão do cetoprofeno pela matriz polimérica. Quanto maior o número de interações eletrostáticas entre quitosana e nanogéis, menor será a taxa de molhabilidade das micropartículas, pois o complexo polieletrólítico dificulta a difusão de moléculas de água para dentro da matriz. Assim os nanogéis contidos nas micropartículas Q95^aR50^b-70%^c e Q95^aR51^b-70%^c precisaram de um maior intervalo de tempo para receberem o estímulo favorável ao intumescimento. Além disso, as interações eletrostáticas entre as matrizes poliméricas diminuem o grau de liberdade das cadeias poliméricas das partículas de nanogel, dificultando o seu intumescimento e a liberação do cetoprofeno. A **Tabela 4.11** também apresenta os percentuais de redução de cetoprofeno liberado no pH 7,4 e à temperatura de 37°C, após 24 e 48 horas de testes para as nanopartículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno obtidas nas reações R50 e R51, respectivamente, e para as micropartículas híbridas Q95^aR50^b-40%^c, Q95^aR50^b-70%^c após 24 horas de teste e Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c após 48 horas de testes. Após 24 e 48 horas de testes, as nanopartículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno obtidas nas reações R50 e R51, liberam 100% do cetoprofeno encapsulado, respectivamente, no pH 7,4 e à temperatura de 37°C.

Tabela 4.11- Percentual de cetoprofeno liberado no pH 7,4 e à temperatura de 37°C pelas partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) incorporadas em matriz de quitosana

Amostra	Razão em massa quitosana:microgel	Liberação de cetoprofeno (%)	Percentual de retardação de cetoprofeno liberado (%) ^d
R50	0:1	100	0
R51	0:1	100	0
Q95 ^a R50 ^b -40% ^c	5:2	74	52
Q95 ^a R50 ^b -70% ^c	10:7	47	69
Q95 ^a R51 ^b -40% ^c	5:2	65	35
Q95 ^a R51 ^b -70% ^c	10:7	45	57

a: quitosana com grau de desacetilação de 95%. b: R50 e R51 nanogéis sintetizados com 4,5% e 3% de AI; 2% e 3% de EGDMA; 1% de KPS e 1,25% de cetoprofeno, m/m, com relação à massa de NVCL, respectivamente. c: porcentagens de nanogéis com relação à massa de quitosana. d: retardação da liberação de cetoprofeno com relação a 100% de cetoprofeno liberado após 24h e 48h de testes pelas nanopartículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) obtidas nas reações R50 e R51, respectivamente.

Fonte: Próprio autor.

Especialmente para as micropartículas preparadas com 40% de nanogel com relação à massa de quitosana, Q95^aR50^b-40%^c e Q95^aR51^b-40%^c as micropartículas preparadas com o nanogel R50 (Q95^aR50^b-40%^c) liberaram mais cetoprofeno do que as partículas preparadas com nanogel R51, Q95^aR51^b-40%^c, após 52h de teste. Como já explicado, a maior densidade de cargas superficiais do nanogel R50 pode proporcionar um efeito repulsivo maior entre os grupos carboxílicos do ácido itacônico, em pH 7,4, dentro da matriz de quitosana, favorecendo a liberação do cetoprofeno. As partículas do nanogel R50 também apresentam uma área superficial maior, aumentando sua exposição ao meio de liberação. Essas características podem ter facilitado a liberação de cetoprofeno pelas micropartículas Q95^aR50^b-40%^c. É observado também que não houve diferença significativa entre a porcentagem final de cetoprofeno liberado entre as micropartículas Q95^aR50^b-70%^c e Q95^aR51^b-70%^c. Isso corrobora a hipótese de que interações eletrostáticas mais fortes entre quitosana e nanogéis podem ter diminuído a taxa de liberação de cetoprofeno, devido à formação de um complexo polieletrólítico mais resistente à difusão das moléculas de água do meio de liberação para o interior da matriz polimérica. É notada uma maior uniformidade dos perfis de liberação para o nanogel R51 e para as micropartículas Q95^aR51^b-40%^c e Q95^aR51^b-70%^c, quando comparados aos perfis de liberação do nanogel R50 e das micropartículas Q95^aR50^b-40%^c e Q95^aR50^b-70%^c, respectivamente. Isso sugere que o cetoprofeno está na fase amorfa, porém melhor disperso no nanogel R51, o que interferiu no perfil de liberação das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno (MESQUITA et al., 2015).

Considerando que o cetoprofeno é um fármaco de meia vida curta, o qual pode atingir sua concentração máxima no organismo de 30 a 120 minutos após a sua ingestão, analisando os perfis de liberação dos nanogéis R50 e R51 é observado que a taxa de liberação de cetoprofeno é acelerada até aproximadamente 120 minutos (HERNANDEZ, 2004). Após 120 minutos a taxa começa a diminuir, caracterizada pela diminuição da inclinação da curva de liberação, e então após 360 minutos a taxa de liberação diminui bruscamente. O mesmo comportamento é observado para todas as micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno, porém a liberação de cetoprofeno é mais lenta. Isso sugere que as partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) são capazes de melhorar a solubilidade do cetoprofeno em água e são capazes de prolongar a sua liberação, o que indica que podem aumentar sua biodisponibilidade. Além disso, os resultados indicam que a incorporação dos nanogéis em matriz de quitosana e o processo de secagem por pulverização preservaram as propriedades físico-químicas dos nanogéis. A **Figura 4.33** representa esquematicamente um mecanismo sugerido para a liberação de cetoprofeno a partir de micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno preparadas via secagem por pulverização no pH 7,4 e a 37°C.

Figura 4.33- Representação esquemática de liberação cetoprofeno em pH 7,4.

Fonte: Próprio autor.

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvido um novo sistema polimérico híbrido e inteligente constituído de micropartículas de quitosana incorporadas de nanogéis de poli(*N*-vinilcaprolactama-*co*-ácido itacônico-*co*-dimetacrilato de etilenoglicol) (poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)) via secagem por pulverização para a liberação controlada de fármacos. O perfil de liberação foi estudado a partir da encapsulação de um fármaco hidrofóbico (cetoprofeno) via processo de polimerização por precipitação em água.

Na primeira etapa do trabalho utilizou-se a polimerização por precipitação para sintetizar partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) sensíveis à temperatura e ao pH. Foi estudada a influência da concentração dos monômeros e de iniciador no tamanho médio de partícula e na sensibilidade dos nanogéis em pH 7,4 e 1,2, nas temperaturas de 25°C e 37°C. Duas formulações de nanogéis com tamanhos de partícula distintos, reação R1 = 190,6 nm e reação R8 = 122,8 nm, foram escolhidas para a encapsulação de cetoprofeno via polimerização por precipitação. A encapsulação de cetoprofeno resultou em partículas com diâmetros hidrodinâmicos de 185,9 nm (reação R51) e 120,6 nm (reação R50), respectivamente correspondentes às formulações das reações R1 e R8. A incorporação de partículas de nanogel na matriz de quitosana foi realizada através das técnicas de gelificação iônica e secagem por pulverização. Quanto à encapsulação do cetoprofeno, a hidrofiliicidade e a repulsão entre grupos carboxílicos ionizados entre moléculas de cetoprofeno e unidades de ácido itacônico das cadeias de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) mostraram ser fatores limitantes para a encapsulação fármaco. As nanopartículas constituídas por uma matriz polimérica de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) mais hidrofílica (reação R50) apresentaram uma eficiência de encapsulação de 39,6%, enquanto que as nanopartículas constituídas por uma matriz polimérica menos hidrofílica (reação R51), a eficiência de encapsulação foi de 57,8%. Porém, para ambos os tipos de partículas, o processo de encapsulação foi eficiente na amorfização do cetoprofeno, melhorando sua solubilidade e provavelmente, a sua biodisponibilidade, a qual não foi estudada neste trabalho. A gelificação iônica se mostrou uma técnica promissora para a formação de uma matriz híbrida por meio de interações eletrostáticas entre quitosana e partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), ajustando-se apenas o pH das dispersões poliméricas e evitando o uso de agentes químicos que gerassem resíduos químicos precisassem ser removidos após a secagem por pulverização.

A secagem por pulverização, realizada no equipamento *Nano Spray Dryer B-90* Büchi®, se mostrou eficiente quanto à recuperação do produto em pó e quanto à manutenção das propriedades físico-químicas dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA). Isso garantiu a uniformidade do perfil de liberação das micropartículas híbridas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno, as quais apresentaram um perfil de liberação prolongado. Os mecanismos de intumescimento e de difusão se mostraram os fatores mais atuantes na liberação do cetoprofeno tanto pelas nanopartículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno quanto pelas micropartículas híbridas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno. O perfil de liberação das micropartículas de quitosana/poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno foi similar ao perfil de liberação do cetoprofeno a partir das partículas de nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), exceto pela diminuição da taxa de liberação, indicando que a matriz de quitosana prolongou ainda mais a liberação de cetoprofeno e ajudou na preservação física dos nanogéis. As partículas de nanogel de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno obtidas nas reações R50 e R51, liberaram 100% do fármaco encapsulado após 24h e 48h, respectivamente, em pH 7,4 e à temperatura de 37°C. Nas mesmas condições de teste, comparando a liberação de cetoprofeno encapsulado pelas nanopartículas de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA)-cetoprofeno obtidas nas reações R50 e R51 com as respectivas formulações de micropartículas híbridas, as micropartículas híbridas Q95^aR50^b-40%^c e Q95^aR50^b-70%^c retardaram a liberação do cetoprofeno encapsulado em 52% e 69%, respectivamente, após 24 horas de teste, e as micropartículas Q95^aR51^b-40%^c, e Q95^aR51^b-70%^c retardaram a liberação do cetoprofeno encapsulado em 35% e 57% após 48h.

Apesar da manutenção da integridade do fármaco e das propriedades físicas das partículas de nanogéis, a criação e otimização de modelos de micropartículas preparadas via secagem por pulverização é desafiante, devido ao grande número de parâmetros críticos que interferem no processo de formação de partículas durante a secagem por pulverização. Portanto o processo de otimização para definição de características morfológicas, especialmente tamanho de partícula e propriedades de superfície, requerem bastante tempo e estudos ainda mais aprofundados, dignos de outro trabalho como este, uma vez que a heterogeneidade dessas partículas, o que é comum nos processos de secagem por pulverização, pode ser conflitante de acordo com a aplicação desejada.

REFERÊNCIAS

ABIOYE, A.; ISSAH, S.; KOLA-MUSTAPHA, A. Ex vivo skin permeation and retention studies on chitosan–ibuprofen–gellan ternary nanogel prepared by in situ ionic gelation technique—a tool for controlled transdermal delivery of ibuprofen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 490, n. 1-2, p. 112-130, 2015.

ADALI, T.; YILMAZ, E.. Synthesis, characterization and biocompatibility studies on chitosan-graft-poly(EGDMA). **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 1, p.136-141, 2009.

AGORAM, B.; WOLTOSZ, W. S.; BOLGER, M. B.. Predicting the impact of physiological and biochemical processes on oral drug bioavailability. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, n. 50, p.547-561, 2001.

ALI, M. et al. A one-dimensional plug-flow model of a counter-current spray drying tower. **Chemical Engineering Research And Design**, v. 92, n. 5, p.826-841, 2014.

ARPAGAUS, C. A novel laboratory-scale spray dryer to produce nanoparticles. **Drying Technology: A international Journal**, v. 30, p.1113-1121, 2012.

ASOH, T. et al. Rapid deswelling of semi-IPNs with nanosized tracts in response to pH and temperature. **Journal of Controlled Release**, v. 110, p. 387-394, 2006.

BALAMURUGAN, M. Chitosan: a perfect polymer used in fabricating gene delivery and novel drug delivery systems. **International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p.54-56, 2012.

BEDNARZ, S. et al. Synthesis of hydrogels by polymerization of itaconic acid-choline chloride deep eutectic solvent. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 16, p. n/a-n/a, 2014.

BERA, R.; DEY, A.; CHAKRABARTY, D. Synthesis, Characterization, and Drug Release Study of Acrylamide-co-Itaconic Acid Based Smart Hydrogel. **Polymer Engineering**, v. 2015.

BERGER, J. et al. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, n. 1, p. 35-52, 2004.

BERGER, S. et al. Microgel/clay nanohybrids as responsive scavenger systems. **Polymer**, v. 51, n. 17, p.3829-3835, 2010.

BOCOURT, M. et al. Synthesis and characterization of novel pH-sensitive chitosan-poly(acrylamide-*co*-itaconic acid) hydrogels. **Polymer International**, v. 63, p.1715-1723, 2014.

BONNET, V. et al. Cyclodextrin nanoassemblies: a promising tool for drug delivery. **Drug Discovery Today**, v. 20, n. 9, p.1120-1126, 2015.

BROICHSITTER, M. et al. Characterization of novel spray-dried polymeric particles for controlled pulmonary drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 158, n. 2, p. 329-335, 2012.

BROICHSITTER, M.; STREHLOW, B.; KISSEL, T. Direct fractionation of spray-dried polymeric microparticles by inertial impaction. **Powder Technology**, v. 286, p.311-317, dez. 2015.

ÇAVUS, S.; ÇAKAL, E. Synthesis and Characterization of Novel Poly(*N*-vinylcaprolactam-*co*-itaconic Acid) Gels and Analysis of pH and Temperature Sensitivity. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 51, p. 1218-1226, 2012.

CELLI, G. B.; GHANEM, A.; BROOKS, M. S. Bioactive Encapsulated Powders for Functional Foods—a Review of Methods and Current Limitations. **Food Bioprocess Technol**, v. 8, n. 9, p.1825-1837, 2015.

CERCHIARA, T. et al. Chitosan based micro- and nanoparticles for colon-targeted delivery of vancomycin prepared by alternative processing methods. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, v. 92, p.112-119, 2015.

CHAN, S. Y. et al. The characterization and dissolution performances of spray dried solid dispersion of ketoprofen in hydrophilic carriers. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 1-14, 2015.

CHANG, S. et al. pH Effects on solubility, zeta potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 74-81, 2015.

CHATERJI, S.; KWON, I.; PARK, K. Smart polymeric gels: Redefining the limits of biomedical devices. *Progress in Polymer Science*, v. 32, n. 8-9, p. 1083-1122, 2007.

CHEN, G.; USHIDA, T.; TATEISHI, T. Scaffold Design for Tissue engineering. **Macromolecular Bioscience**, v. 2, n. 2, p.67-77, 2002.

CHENG, R. et al. Dual and multi-stimuli responsive polymeric nanoparticles for programmed site-specific drug delivery. **Biomaterials**, v. 34, n. 14, p.3647-3657, 2013.

CONTRI, R. V. et al. Structural analysis of chitosan hydrogels containing polymeric nanocapsules. **Materials Science And Engineering: C**, v. 42, p.234-242, 2014.

CORTEZ-LEMUS, N. A.; LICEA-CLAVERIE, Angel. Poly(N-vinylcaprolactam), a comprehensive review on a thermoresponsive polymer becoming popular. **Progress In Polymer Science**, v. 53, p.1-51, 2016.

COSTA, R. A. S. **Síntese e teste de hidrogéis inteligentes para a liberação controlada de fármacos**. 2012. 205 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de tecnologia biomédica, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 2013.

DASH, M. et al. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress In Polymer Science**, v. 36, n. 8, p.981-1014, 2011.

DHAWADE, K.; JAGTAP, R. N. Characterization of the glass transition temperature of chitosan and its oligomers by temperature modulated differential scanning calorimetry. **Advances in Applied Science Research**, v. 3, n. 3, p.1372-1387, 2012.

DIXIT, K.; SINGH R. P.; SINGH, S. Solid Dispersion - A strategy for improving the solubility of poorly soluble drugs. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 2, p.960-966, 2012.

DOWNEY, J. S. et al. Growth Mechanism of Poly(divinylbenzene) Microspheres in Precipitation Polymerization. **Macromolecules**, v. 32, n. 9, p.2838-2844, 1999.

EL-KAMEL, A.H et al. Preparation and evaluation of ketoprofen floating oral delivery system. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 220, n. 1-2, p.13-21, 2001.

EMMANUEL, O. O. et al. Extraction and physicochemical characterization of a potential multifunctional pharma-excipient from crab shell wastes. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 40, p.2856-2861, 2015.

ESTEVINHO, B. N. et al. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications: a review. **Trends In Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p.138-155, 2013.

FAN, W. et al. Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 90, p. 21-27, 2012.

FEIJÓ, F. et al. Estudo da influência das concentrações de monômero principal e de agente reticulante na estrutura do gel poli(N-isopropilacrilamida) através de espectroscopia de aniquilação de pósitrons. **Polímeros**, v. 9, n. 4, 1999.

FILIPOV, U. S.; DUMITRIU, R. P.; VASILE, C. Experimental study on the ketoprofen analgesic efficiency optimization by inclusion in a bicomponent hydrogel matrices. **Recent Advances In Continuum Mechanics, Hydrology And Ecology**, v. 1, n. 9, p.162-166, 2013.

FIORI, A. et al. Preparação e caracterização de nanocompósitos poliméricos baseados em quitosana e argilo minerais. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 628-635, 2014.

FLEIGE, E.; QUADIR, M. A.; HAAG, R. Stimuli-responsive polymeric nanocarriers for the controlled transport of active compounds: Concepts and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 866-884, 2012.

FRANCO, N. A. **Nanopartículas e suas aplicações em ciências farmacêuticas o estado da arte**. 2013, 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, Portugal, 2015.

GANJI, F.; VASHEGHANI-FARAHANI, V.; Hydrogels in Controlled Drug Delivery Systems. **Iranian Polymer Journal**, v. 18, n. 1, p.63-68, 2009.

GAO, X. et al. Biodegradable, pH-Responsive Carboxymethyl Cellulose/Poly(Acrylic Acid) Hydrogels for Oral Insulin Delivery. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, p.565-575, 2014.

GAUDIO, P. et al. Encapsulation of Ketoprofen and Ketoprofen Lysinate by Prilling for Controlled Drug Release. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 4, p. 1178-1185, 2009.

GOY, R. C.; ASSIS, O. B. G.; CAMPANA FILHO, S. P. Produção de Esferas de Quitosana: Meio para Interação com Metais em Fase Aquosa. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 33, p. 29-33, 2004.

GU, B.; LINEHAN, B.; TSENG, Y. Optimization of the Büchi B-90 spray drying process using central composite design for preparation of solid dispersions. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 491, n. 1-2, p.208-217, 2015.

GUE, E. et al. Accelerated ketoprofen release from spray-dried polymeric particles: importance of phase transitions and excipient distribution. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 41, n. 5, p. 838-850, 2014.

HAGGAG, Y. A.; FAHEEM, A. M. Evaluation of nano spray drying as a method for drying and formulation of therapeutic peptides and proteins. **Frontiers In Pharmacology**, v. 6, n. 140, p.1-5, 2015.

HERNANDEZ, Cláudia. **Desenvolvimento e avaliação in vitro de matrizes de cetoprofeno para liberação controlada**. 2004. 176 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

HAWKER, C. J. "Living" Free Radical Polymerization: A unique technique for the preparation of controlled macromolecular architectures. **Accounts Of Chemical Research**, v. 30, n. 9, p.373-382, 1997.

HASHEMINYA, S. M.; DEHGHANNYA, J. Spray dryers: Applications, performance, essential parts and classifications. **International Journal Of Farming And Allied Sciences**, v. 19, n. 2, p.756-759, 2013.

HOARE, T.; PELTON, R. Titrametric characterization of ph-induced phase transitions in functionalized microgels. **Langmuir**, v. 22, n. 17, p. 7342-7350, 2006.

HOFMEISTER, I.; LANDFESTER, K.; TADEN, A. Controlled formation of polymer nanocapsules with high diffusion-barrier properties and prediction of encapsulation efficiency. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, n. 1, p.327-330, 2014.

HUANG, C. et al. Preparation of a thermo- and pH-sensitive nanofibrous scaffold with embedded chitosan-based nanoparticles and its evaluation as a drug carrier. **Cellulose**, v. 21, n. 4, p.2497-2509, 2014.

IMAZ, A.; FORCADA, J. synthesis strategies to incorporate acrylic acid into *n*-vinylcaprolactam: based microgels. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 49, p. 3218-3227, 2011.

JANKAEW, Rathanon et al. "Smart" carboxymethylchitosan hydrogels crosslinked with poly(N-isopropylacrylamide) and poly(acrylic acid) for controlled drug release. **Polymer Testing**, v. 42, p.26-36, 2015.

JEONG, B.; BAE, Y.; KIM, S. Drug release from biodegradable injectable thermosensitive hydrogel of PEG–PLGA–PEG triblock copolymers. **Journal of Controlled Release**, v. 63, n. 1-2, p. 155-163, 2000.

KARG, M. et al. Temperature, pH, and ionic strength induced changes of the swelling behavior of pnipam–poly(allylactic acid) copolymer microgels. **Langmuir**, v. 24, n. 12, p. 6300-6306, 2008.

KEAN, T.; THANOU, M.. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p.3-11, 2010.

KECK, C; MULLER, R. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, v. 62, n. 1, p.3-16, 2006.

KOYNOVA, R.; TENCHOV, B. Recent progress in liposome production, relevance to drug delivery and nanomedicine. **Recent Patents On Nanotechnology**, v. 9, n. 2, p.86-93, 2015.

KRATZ, K.; HELLWEG, T.; EIMER, W. Influence of charge density on the swelling of colloidal poly(N-isopropylacrylamide-*co*-acrylic acid) microgels. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 170, n. 2-3, p.137-149, set. 2000.

LEE, S. H. et al. Nano spray drying: A novel method for preparing protein nanoparticles for protein therapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 403, p. 192–200, 2011.

LI, X. et al. Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi *Nano Spray Dryer B-90*. **Journal of Controlled Release**, v. 147, p. 304–310, 2010.

LIU, J. et al. Poly(n-vinylcaprolactam): a thermoresponsive macromolecule with promising future in biomedical field. **Advanced Healthcare Materials**, p. 1-28, 2014.

LIU, R.; FRAYLICH, M.; SAUNDERS, B. R. Thermoresponsive copolymers: from fundamental studies to applications. **Colloid and Polymer Science**, v. 287, n. 6, p.627-643, 2009.

MACHADO, F.; LIMA, E. L.; PINTO, J. C. Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão. **Polímeros**, v. 17, n. 2, p.166-179, 2007.

MAESTRELLI, F. et al. Comparative evaluation of polymeric and waxy microspheres for combined colon delivery of ascorbic acid and ketoprofen. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 485, n. 1-2, p.365-373, 2015.

MACKOVÁ, H.; HORÁK, D. Effects of the reaction parameters on the properties of thermo-sensitive poly(N-isopropylacrylamide) microspheres prepared by precipitation and dispersion polymerization. **Journal of Polymer Science. Part A: Polymer Chemistry**, v. 44, p. 968–982, 2006.

MARQUES, N. N.; MAIA, A. M. S.; BALABAN, R. C. Development of dual-sensitive smart polymers by grafting chitosan with poly (N-isopropylacrylamide): an overview. **Polímeros**, v. 25, n. 3, p.237-246, 2015.

MARQUES, N. M. **Partículas inteligentes de poli(N-isopropilacrilamida), quitosana e poli(ácido acrílico):** efeito da temperatura e do pH. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

MATOUGUI, N. et al. Lipid-based nanoformulations for peptide delivery. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 502, n. 1-2, p.80-97, 2016.

MARTINEZ, A. et al. Effects of crosslinking on the mechanical properties, drug release and cytocompatibility of protein polymers. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 1, p. 26-33, 2014.

MEDEIROS, S. F. et al. Biocompatible and multi-responsive poly(N-vinylcaprolactam)-based microgels: The role of acidic comonomers in the colloidal properties and phase transition as a function of temperature and pH. **European Polymer Journal**, v. 73, p.191-201, 2015.

MEDEIROS, S. F. et al. Stimuli-responsive magnetic particles for biomedical applications. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 403, n. 1-2, p.139-161, 2011.

MESQUITA, P. et al. Physicochemical aspects involved in methotrexate release kinetics from biodegradable spray-dried chitosan microparticles. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 81, p. 27-33, 2015.

MILAŠINOVIĆ, N. et al. Synthesis, characterization and application of poly(N-isopropylacrylamide-*co*-itaconic acid) hydrogels as supports for lipase immobilization. **Reactive and Functional Polymers**, v. 70, n. 10, p. 807-814, 2010.

MONTES, J. Á.; ORTEGA, A.; BURILLO, G. Dual-stimuli responsive copolymers based on N-vinylcaprolactam/chitosan. **Journal Of Radioanalytical And Nuclear Chemistry**, v. 303, p.2143-2150, 2014.

MOUSSEAU, F. et al. Polyelectrolyte assisted charge titration spectrometry: Applications to latex and oxide nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 475, p. 36-45, 2016.

MUNDARGI, R. C.; RANGASWAMY, V.; AMINABHAVI, T. M. Poly(N-vinylcaprolactam-*co*-methacrylic acid) hydrogel microparticles for oral insulin delivery. **Journal Of Microencapsulation**, v. 28, n. 5, p.384-394, 2011.

NÄGELE, E. The Zeta-potential of cement. **Cement and concrete research**, v. 15, n. 3, p.453-462, 1985.

NANDIYANTO, A. B. Dani; OKUYAMA, Kikuo. Progress in developing spray-drying methods for the production of controlled morphology particles: from the nanometer to submicrometer size ranges. **Advanced Powder Technology**, v. 22, n. 1, p.1-19, 2011.

NETO, B. et al. Preparation and evaluation of chitosan-hydrophobic silica composite microspheres: Role of hydrophobic silica in modifying their properties. **Powder Technology**, v. 255, p. 109-119, 2014.

NIGMATULLIN, Rinat et al. Polyhydroxyalkanoates, a family of natural polymers, and their applications in drug delivery. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology** v. 90, n. 7, p.1209-1221, 2015.

NOSHAD, M. et al. Effect of layer-by-layer polyelectrolyte method on encapsulation of vanillin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p.803-808, 2015.

OLIVEIRA, A. M. et al. Nano spray drying as an innovative technology for encapsulating hydrophilic active pharmaceutical ingredients (API). **Journal Nanomed Nanotechnol**, v. 4, 2013.

PARIZE, A. et al. Evaluation of chitosan microparticles containing curcumin and crosslinked with sodium tripolyphosphate produced by spray drying. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1127-1132, 2012.

PARRISH, W.; KOHLER, T. R. Comparison of X - ray wavelengths for powder diffractometry. **Journal of Applied Physics**, v. 27, p. 1215-1220, 1956.

PAUDEL, A. et al. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 253– 284, 2013.

PIKAEBA, A.; RAMOS, J.; FORCADA, J. Production of cationic nanogels with potential use in controlled drug delivery. **Particle & Particle System Characterization**, v. 31, p.101-109, 2014.

PRABAHARAN, M. et al. Stimuli-responsive chitosan-graft-poly(*N*-vinylcaprolactam) as a promising material for controlled hydrophobic drug delivery. **Macromolecular Bioscience**, v. 8, p. 843-851, 2008.

RAMOS, J.; IMAZ, A.; FORCADA, J. Temperature-sensitive nanogels: poly(*N*-vinylcaprolactam) versus poly(*N*-isopropylacrylamide). **Polymer. Chemistry**, v. 3, n. 4, p.852-856, 2012.

RAO, N. G. R. et al. A Review on Pulsatile Drug Delivery System. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 4, n. 3, p.31-44, 2013.

RAULA, J. et al. Aerosol-processed polymeric drug nanoparticles for sustained and triggered drug release. **Journal Of Controlled Release**, v. 148, n. 1, p.52-53, 2010.

REINAS, A. et al. Preparation and characterization of microcapsules of *Pterodon pubescens* Benth. by using natural polymers. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 4, p. 919-930, 2014.

RICCI, M. et al. Ketoprofen controlled release from composite microcapsules for cell encapsulation: Effect on post-transplant acute inflammation. **Journal Of Controlled Release**, v. 107, n. 3, p.395-407, 2005.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Progress In Polymer Science**, v. 31, n. 7, p.603-632, 2006.

SANTOS, J. et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros**, v. 13, n. 4, 2003.

SANTOS, D. M.; BUKZEM, A. L.; CAMPANA-FILHO, S. P. Response surface methodology applied to the study of the microwave-assisted synthesis of quaternized chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p.317-326, 2016.

SARI, R. et al. Ketoprofen-carboxymethyl chitosan microparticles prepared by spray drying: optimization and evaluation. **Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research**, v. 8, n. 1, p.331-333, 2015.

SCHAFROTH, N. et al. Nano and microparticle engineering of water insoluble drugs using a novel spray-drying process. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 90, p. 8–15, 2012.

SCHATTLING, P.; JOCHUM, F. D.; THEATO, P. Multi-stimuli responsive polymers—the all-in-one talents. **Polymer Chemistry**, v. 5, p. 25-36, 2014.

SCHAFFAZICK, S. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SOSNIK, A.; SEREMETA, K. P. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 223, p. 40–54, 2015.

SUDHAKAR, K. et al. Development of dual responsive 5-fluorouracil loaded poly(N-vinylcaprolactam) based nanogels for targeted drug delivery applications. **Polymer Science Series B**, v. 57, n. 6, p.638-644, 2015.

SUGITA, P. et al. Ketoprofen encapsulation optimization with chitosan-alginate cross-linked with sodium tripolyphosphate and its release mechanism determination using in vitro dissolution. **International Journal of Research And Reviews In Applied Sciences**, v. 14, n. 1, p.141-149, 2013.

SZYMAŃSKA, E.; WINNICKA, K. Stability of Chitosan—A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 4, p.1819-1846, 2015.

ULLAH, F. et al. Classification, processing and application of hydrogels: A review. **Materials Science And Engineering: C**, v. 57, p.414-433, 2015.

UNITED STATES PATENT OFFICE (New York). Samuel R Percy. **Improvement in drying and concentrating liquid substances by atomizing**. USA nº 125406, 9 de abril 1872.

VASCONCELOS, A. T. **Estruturas supramoleculares de nucleosídeos mimetizando DNA em cristais: forma III da dupla hélice da lamivudina**. 2014. 60 f. Dissertação (Mestrado)-, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, 2014.

VEHRING, R. Pharmaceutical particle engineering via spray drying. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 5, p.999-1022, 28 nov. 2007.

VICENTE, J. et al. Fundamental analysis of particle formation in spray drying. **Powder Technology**, v. 247, p.1-7, 2013.

VIHOLA, H. et al. Cytotoxicity of thermosensitive polymers poly(N-isopropylacrylamide), poly(N-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified poly(N-vinylcaprolactam). **Biomaterials**, v. 26, n. 16, p.3055-3064, 2005.

VILAR, G.; TULLA-PUCHE, J.; ALBERICIO, F. Polymers and Drug Delivery Systems. **Current Drug Delivery**, v. 9, n. 4, p.367-394, 2012.

XIAO, B. et al. Synthesis and characterization of N-(2-hydroxy)propyl-3-trimethyl ammonium chitosan chloride for potential application in gene delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 91, p. 168-174, 2012.

WAN, T.; CHENG, W.; ZHOU, Z.; XU. M.; ZOU, C.; LI. R. Influence of crosslinker amount on swelling and gel properties of hectorite/poly(acrylamide/itaconic acid) nanocomposite hydrogels. **Korean Journal of Chemical Engineering** , p. 1-6, 2014.

WANG, J. J. et al. Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. **International Journal of Nanomedicine**, p.765-774, 2011.

WILLKE, T.; VORLOP, K. Biotechnological production of itaconic acid. **Applied Microbiology And Biotechnology**, v. 56, n. 3-4, p.289-295, 2001.

WILKE, P. et al. Biocompatible microgel-modified electrospun fibers for zinc ion release. **Polymer**, v. 61, n. 61, p.163-173, 2015.

WU, Q. et al. Synthesis and self-assembly of new amphiphilic thermosensitive poly(N-vinylcaprolactam)/poly(d,l-lactide) block copolymers via the combination of ring-opening polymerization and click chemistry. **Polymer Bulletin**, v. 72, n. 6, p.1449-1466, 2015.

YAMADA, T.; ONISHI, H.; MACHIDA, Y. In vitro and in vivo evaluation of sustained release chitosan-coated ketoprofen microparticles. **Yakugaku Zasshi**, v. 121, n. 3, p.239-245, 2001.

YANUL, N. A. et al. Thermoresponsive Properties of Poly(N-vinylcaprolactam)-Poly(ethylene oxide) Aqueous Systems: Solutions and Block Copolymer Networks. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 202, n. 9, p.1700-1709, 2001.

YOU, J. et al. Quaternized Chitosan/Poly(acrylic acid) polyelectrolyte complex hydrogels with tough, self-recovery, and tunable mechanical properties. **Macromolecules**, v. 49, n. 3, p. 1049-1059, 2016.

YONG, K. et al. Preparation of Quantum Dot/Drug Nanoparticle Formulations for Traceable Targeted Delivery and Therapy. **Theranostics**, v. 2, n. 7, p.681-694, 2012.

YOUNES, I. et al. Cytotoxicity of chitosans with different acetylation degrees and molecular weights on bladder carcinoma cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 84, p.200-207, 2016.

ZHANG, H. Controlled/"living" radical precipitation polymerization: A versatile polymerization technique for advanced functional polymers. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 3, p.579-600, 2013.

ZHANG, Z. et al. Designing hydrogel particles for controlled or targeted release of lipophilic bioactive agents in the gastrointestinal tract. **European Polymer Journal**, v. 72, p.698-716, 2015.

ZHAO, P. et al. Biodegradable fibrous scaffolds composed of gelatin coated poly(ϵ -caprolactone) prepared by coaxial electrospinning. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 83A, n. 2, p. 372-382, 2007.

ZHAO, J. et al. Preparation, structure and crystallinity of chitosan nano-fibers by a solid–liquid phase separation technique. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1541-1546, 2011.

APÊNDICE A- Diferenças entre os pulverizadores de escala laboratorial, Mini Spray Dryer B-290 e o Nano Spray Dryer B-90, desenvolvidos pela Büchi®

Tabela A.1- Principais diferenças entre o *Nano Spray Dryer B-90* e o *Mini Spray Dryer B-290*, desenvolvidos pela Büchi®

Características	Nano Spray Dryer B-90	Mini Spray Dryer B-290
Volume de amostra (mL)	1-200	30-1000
Viscosidade limite da amostra (cP)	10	300
Tecnologia de atomização	Cristal piezoelétrico/Membrana de atomização vibratória (Frequência ultrassônica de 60kHz)	Bico de dois fluidos pneumático
Energia de atomização	Ultrassônica/cristal piezoelétrico	Pneumática (gás pressurizador)
Diâmetro da membrana perfurada do bico atomizador	4,0, 5,5 ou 7µm	0,7, 1,4 ou 2,0mm
Distribuição de tamanho de gotículas	Estreita	Larga
Regime de operação do sistema de aquecimento	Fluxo laminar de gás (80-160 l/min)	Fluxo turbulento de gás (até 580 l/min)
Temperatura máxima da solução de alimentação	120°C	220°C
Taxa de transferência de massa (mL/h)/ velocidade de processamento	200/baixa	1000/alta
Distribuição de diâmetro de partículas (µm)	0,3-5	1-25
Sistema de recuperação de partículas	Eletrostático/coletor cilíndrico de metal	Ciclone/coletor de vidro
Mecanismo de coleta	Independente da massa das partículas	Depende da massa das partículas
Rendimento de recuperação	até 90%	até 70%
Possibilidade de ampliação de escala	difícil	fácil

Fonte: (SOSNIK; SEMERETA, 2015).

APÊNDICE B- Estabilidade coloidal dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA) após 1 ano de armazenamento

A **Tabela B.1** mostra que após 1 ano de armazenamento, os microgéis mantiveram-se estáveis, pois o seu diâmetro hidrodinâmico e sua polidispersidade (PDI) não alteraram significativamente ao longo do seu tempo de armazenamento, exceto as formulações R6 e R7, para as quais pode ter ocorrido a formação de aglomerados e a sua sedimentação. Esse resultado reforça a importância da ionização parcial dos grupos carboxílicos do ácido itacônico na estabilização coloidal dos microgéis sintetizados sem surfactantes.

Tabela B.1- Estabilidade coloidal dos nanogéis de poli(NVCL-*co*-AI-*co*-EGDMA), sintetizados com diferentes concentrações de AI, EGDMA e KPS após 1 ano de armazenamento

Reações	Tempo de armazenamento	D_h (nm)	PDI
R1	0	190,6	0,025
	1 ano	196,6	0,027
R2	0	161,3	0,054
	1 ano	163,4	0,050
R3	0	137,6	0,018
	1 ano	138,8	0,012
R4	0	159,2	0,025
	1 ano	154,3	0,005
R5	0	213,8	0,218
	1 ano	202,2	0,019
R6	0	151,9	0,076
	1 ano	137,1	0,019
R7	0	300,0	0,210
	1 ano	197,3	0,121
R8	0	122,8	0,018
	1 ano	119,1	0,010

Fonte: Próprio autor.