



# Fotopolimerização de hidrogéis liberadores de óxido nítrico baseados em N-isopropilacrilamida e ácido acrílico

**Palavras-Chave:** [Impressão 3D], [Biomateriais], [Polímeros]

**Autores/as:**

**Marina Ferreira Maximo [UNICAMP]**

**Laura Caetano Escobar da Silva [UNICAMP]**

**Marcelo Ganzarolli de Oliveira [UNICAMP]**

---

## INTRODUÇÃO

Este projeto teve como objetivo a síntese de biomateriais para promover a liberação controlada de óxido nítrico (NO) em diferentes aplicações médicas. O NO é uma molécula radicalar e bastante reativa, que atua em diversos processos fisiológicos diferentes, inibindo ou ativando moléculas envolvidas, por exemplo, na regulação da vasodilatação, controle imunológico, neurotransmissão e regeneração epitelial.<sup>1,2,3</sup> Hidrogéis, capazes de absorver grandes quantidades de água sem se dissolver, são usados em sistemas de liberação de fármacos e podem ser carregados com moléculas doadoras de NO.<sup>4</sup>

Hidrogéis de PAAc e de PNIPAm são pH e termo responsivos, respectivamente.<sup>4,5</sup> Ou seja, respondem a estímulos externos através de alterações reversíveis de volume. Assim, é possível alterar a quantidade de água absorvida e a cinética de liberação de fármacos destes hidrogéis, provocando mudanças no pH e na temperatura.<sup>5</sup> Um hidrogel de um copolímero de NIPAm e AAc seria, portanto, pH e termo responsivo. A síntese de hidrogéis de P(NIPAm-co-AAc) já é descrita na literatura, mas é tipicamente realizada por polimerização térmica.<sup>4,5,6</sup> A proposta inovadora deste projeto foi a síntese deste hidrogel por fotopolimerização, resultando em um processo mais simples e rápido, que permite novas formas de processamento, como a impressão 3D, que pode promover a produção de materiais feitos sob medida.

Neste projeto foram sintetizados hidrogéis de P(NIPAm-co-AAc) e estudou-se os efeitos da temperatura e do pH no seu intumescimento. Os hidrogéis foram também caracterizados por microscopia eletrônica de varredura, calorimetria diferencial exploratória e testes de compressão.

## METODOLOGIA

### *Materiais*

N-isopropilacrilamida (NIPAm), ácido acrílico (AAc), N,N'- metilenobisacrilamida (BIS), óxido de fenilbis(2,4,6-trimetilbenzoil) fosfina (Irgacure 819) foram obtidos da Sigma e usados sem purificação prévia.

### *Fotopolimerização dos hidrogéis*

Foram sintetizados 3 tipos de hidrogéis: homopolímeros de PNIPAm e de PAAc e copolímero P(NIPAm-co-AAc). Nos três casos, primeiramente foi adicionada água destilada aos monômeros de forma

a se obter uma concentração de 20% m/m. Às soluções dos monômeros foi adicionado 0,1% m/m do reticulante (BIS) dissolvido em água destilada. Após a solução resultante ter sido submetida a agitação e purga de  $N_{2(g)}$  por 40 min, protegeu-se a solução da luz e adicionou-se  $8 \times 10^{-3}$  % m/m (em relação à massa de monômeros) do fotoiniciador (Irgacure 819), dissolvido em etanol. Em seguida, após completa homogeneização de todos os reagentes, 3 mL da mistura reacional foi vertida em molde de teflon de 2,5 cm de diâmetro sob fluxo de  $N_{2(g)}$  e irradiada com luz visível utilizando-se uma fonte LED de 720 lumens a 30°C. Após aproximadamente 3 min de irradiação, os hidrogéis foram removidos do molde, lavados com isopropanol e submetidos a diálise em água destilada por 5 dias (com troca da água a cada 24 h).

### *Influência da temperatura e pH*

Os graus de intumescimento dos hidrogéis foram medidos após os seus equilíbrios de intumescimento em soluções de pH 2 e 13, em temperaturas de 0 e 100 °C. As amostras de cada tipo de hidrogel foram imersas em 50 mL de cada um desses meios por 30 min e as alterações de volume foram registradas através de fotografias.

### *Caracterizações morfológica e térmica*

A morfologia dos hidrogéis secos foi analisada através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) em um microscópio Quanta 250 FEG (Thermo, USA). As amostras foram preparadas por fratura criogênica (imersão em nitrogênio líquido por 30 min), seguida de liofilização. Depois disso, as amostras foram fixadas em um porta amostras de alumínio e recobertas com Au-Pd em um metalizador Bal-Tec 20 MD (Balzer, USA). As propriedades térmicas dos hidrogéis foram caracterizadas por calorimetria diferencial exploratória (DSC), com primeiro aquecimento da temperatura ambiente até 200°C, seguido de resfriamento de 200°C até 0°C e um segundo aquecimento até 200°C em taxas de aquecimento e resfriamento de 10°C min<sup>-1</sup> com isotermas de 5 min entre as etapas.

### *Impressão 3D*

Para a impressão 3D dos hidrogéis foi utilizada uma impressora MoonRay (Sprintray), onde foram adicionadas resinas contendo 20% m/m de monômeros, 2% m/m de fotoiniciador e 4% m/m de reticulante, considerando a massa total de monômeros. Foram preparadas 4 resinas com porcentagens em massa de NIPAM em relação a AAc de 0%, 10%, 20% e 30%. Após o fim da impressão, as peças impressas foram lavadas com isopropanol e submetidas a diálise com água destilada por 5 dias.

### *Teste de compressão e intumescimento dos hidrogéis impressos*

O teste de compressão foi realizado com deformação de 50% dos géis utilizando o analisador de texturas TA.XTplus, equipado com uma célula de carga de 5 kg e uma sonda circular de 20 mm de diâmetro ajustada para descer na superfície dos corpos de prova movendo-se a 0,1 mm/s. No teste de intumescimento, os hidrogéis foram imersos em diferentes béqueres com 50 mL de água destilada e a cada 5 min amostras dos hidrogéis foram retiradas dos béqueres, o excesso de água foi removido por um papel de filtro e as massas de água absorvidas foram medidas por gravimetria até que os equilíbrios de intumescimento fossem atingidos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### *Fotopolimerização dos hidrogéis*

O hidrogel de PAAc mostrou-se transparente, elástico e aderente, enquanto o hidrogel de PNIPAm mostrou-se esbranquiçado e flexível. Já o hidrogel do copolímero P(NIPAm-co-AAc), apesar da maior elasticidade, apresentou um aspecto físico bastante similar ao hidrogel de PNIPAm. A análise da aparência física dos hidrogéis secos sugere que o copolímero de P(NIPAm-co-AAc) tem propriedades mecânicas

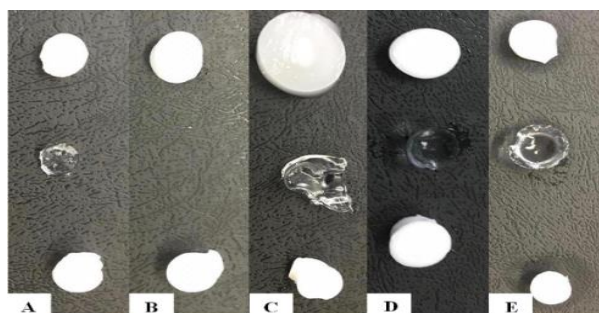
intermediárias às dos homopolímeros. O aspecto esbranquiçado dos hidrogéis de PNIPAm e P(NIPAm-co-AAc) pode ser atribuída à macroporosidade gerada na separação de fases que ocorre devido à baixa solubilidade do NIPAm em água. O mecanismo de formação de poros é normalmente interpretado considerando-se que na fotopolimerização o aumento da massa molar dos polímeros diminui a solubilidade em água provocando a separação de fases, onde uma fase rica em polímero forma as paredes do hidrogel e uma fase rica em água forma os poros.<sup>7</sup> A *figura 1* mostra uma fotografia de amostras representativas dos 3 hidrogéis sintetizados.



*Figura 1. Fotografias dos hidrogéis sintetizados. Da esquerda para direita: P(NIPAm-co-AAc), PAAc e PNIPAm.*

### *Influência da temperatura e do pH*

Essa análise qualitativa mostrou que o copolímero de P(NIPAm-co-AAc) possui propriedades termo e pH responsivas, já que se observou um aumento de volume em pH 13 e uma redução de volume à temperaturas altas e pH 2. O hidrogel de PAAc, sofreu aumento de volume no pH 13 e se fragmentou no pH 2. O hidrogel de PNIPAm, apresentou aumento de volume a altas temperaturas. A *figura 2* mostra fotografias de amostras representativas dos hidrogéis antes e após a exposição aos meios aquosos de diferentes pH e temperatura.



*Figura 2. Fotografias de amostras representativas de hidrogéis submetidos a diferentes condições de pH e temperatura. (A): solução neutra em temperatura ambiente; (B): solução ácida, pH 2 em temperatura ambiente; (C): solução básica, pH 13 em temperatura ambiente; (D): solução neutra em temperatura próxima de 0°C; (E): solução neutra em temperatura próxima de 100°C. De cima para baixo: P(NIPAm-co-AAc), PAAc e PNIPAm.*

### *Caracterizações morfológica e térmica*

A *figura 3* mostra as micrografias das superfícies de fratura dos hidrogéis de PAAc e P(NIPAm-co-AAc). Observa-se que os hidrogéis secos de PAAc e P(NIPAm-co-AAc) apresentaram morfologias densas, enquanto o hidrogel do homopolímero PNIPAm apresentou morfologia de crescimento globular, com poros de escala nanométrica. É possível observar que a fratura do P(NIPAm-co-AAc) é mais frágil, devido à ausência de microfibrilas na imagem, indicando que, na temperatura de congelamento, o hidrogel do copolímero é mais rígido que os demais. Possivelmente, o aumento de elasticidade associado à termo responsividade do copolímero causa um remodelamento da estrutura porosa (verificada pelo aspecto esbranquiçado descrito anteriormente) durante o congelamento, resultando em uma estrutura densa e rígida.

O termograma do P(NIPAm-co-AAc) (*figura 4*) mostra que as duas  $T_g$ 's dos homopolímeros ( $T_g$  do PAAc: 63 °C;  $T_g$  do PNIPAm 134 °C)<sup>8,9</sup> que compõem a matriz polimérica do copolímero, são

preservadas. Assim, conclui-se que os monômeros reagem preferencialmente consigo mesmos, produzindo segmentos de PAAc e PNIPAAm, distribuídos aleatoriamente na cadeia do copolímero e reticulados entre si.

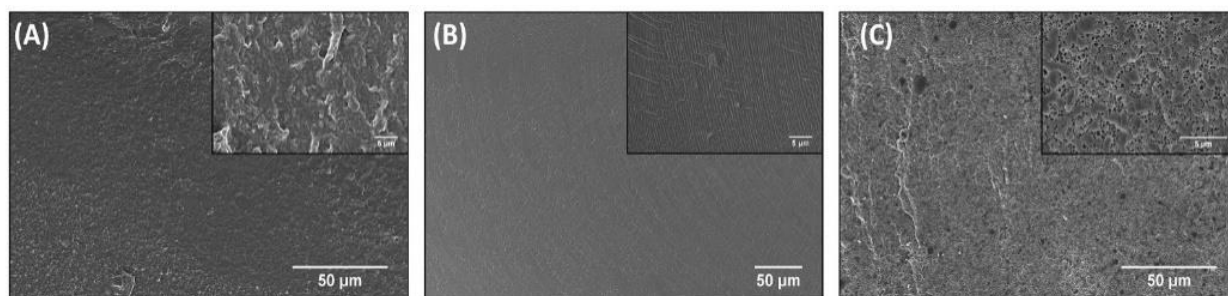


Figura 3. Micrografias das superfícies de fratura de hidrogéis de (A) PAAc, (B) P(NIPAAm-co-AAc) e (C) PNIPAAm.

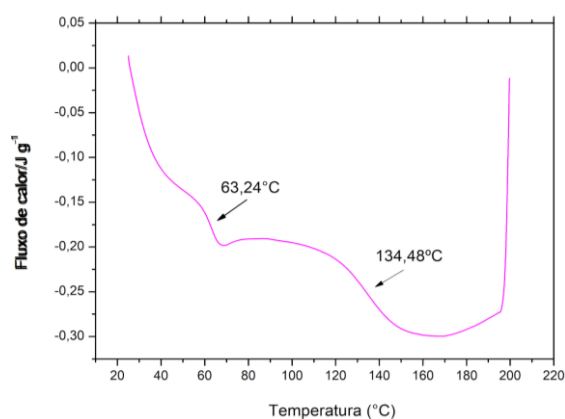


Figura 4. Termograma de DSC do primeiro aquecimento do copolímero P(NIPAAm-co-AAc).

#### Impressão 3D do hidrogel de P(NIPAAm-co-AAc)

Foram impressos corpos de prova cilíndricos de hidrogéis com proporção de 0%, 10%, 20% e 30% de NIPAAm (portanto, 100%, 90%, 80% e 70% de AAc, respectivamente) em impressora 3D. Os hidrogéis hidratados apresentaram um aspecto muito parecido, exceto o hidrogel 100% de AAc, que se mostrou mais opaco. Além disso, notou-se que os hidrogéis obtidos com 10% de NIPAAm possuem uma resolução muito maior que os demais. A figura 5 mostra fotos representativas dos hidrogéis impressos na impressora 3D.

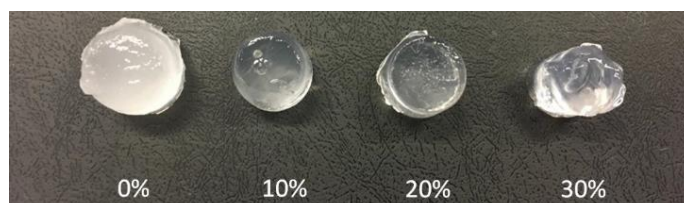


Figura 5. Fotografias dos hidrogéis sintetizados na impressora 3D. Da esquerda para direita: Hidrogel de PAAc puro e de P(NIPAAm-co-AAc) contendo 10%, 20% e 30% de NIPAAm em sua composição, respectivamente.

#### Propriedades mecânicas e grau de intumescimento dos hidrogéis sintetizados por impressão 3D

A figura 6A mostra as curvas de tensão versus deformação obtidas para nos ensaios de compressão dos hidrogéis de PAAc puro e P(NIPAAm-co-AAc) contendo 10%, 20%, e 30% de PNIPAAm. Observa-se que o hidrogel de 10% de NIPAAm tem a maior resistência mecânica e rigidez, seguido pelo de 30%, 20% e 0% de NIPAAm. As curvas de intumescimento da figura 6B mostram que os 4 hidrogéis possuem capacidades de absorção de água de 130 a 160% em relação às suas massas secas. Essas capacidades de intumescimento permitiriam a absorção de soluções aquosas de doadores de óxido nítrico. A figura 6B

mostra também que o hidrogel de PAAc puro é o que apresenta maior capacidade de absorção de água, o que está de acordo com o fato dele ser um polieletrólito.

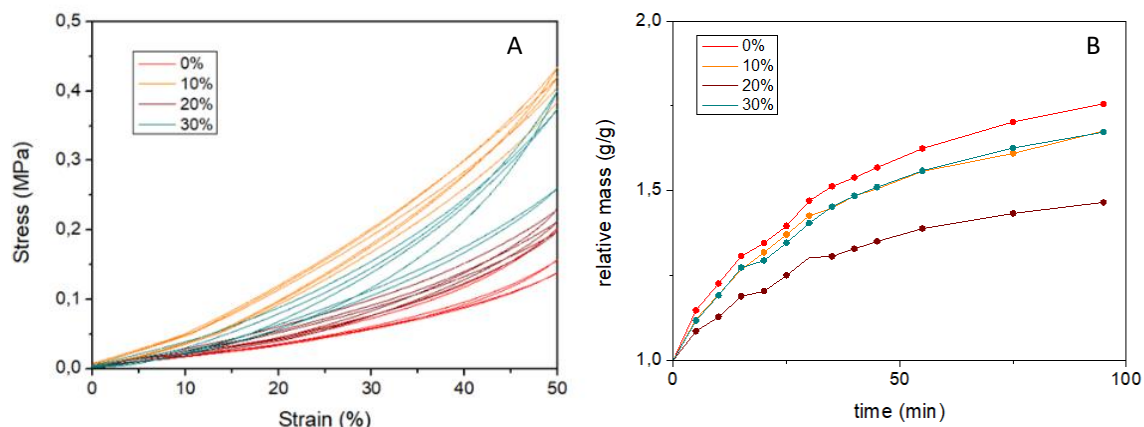


Figura 6. Curvas de tensão estiramento (stress-strain obtidas em ensaio de compressão (A) e curvas de intumescimento (B) de hidrogéis de PAAc puro (0% de PNIPAm) e de hidrogéis de PAAc contendo 10%, 20% e 30% de NIPAm.

## CONCLUSÃO

Hidrogéis de PAAc e de copolímero de P(NIPAAm-coAAc) obtidos por fotopolimerização, apresentam morfologia densa com ausência de poros, enquanto hidrogéis de P(NIPAAm) puro apresentam macroporosidade. Os três hidrogéis estudados permitem a impressão de peças em impressora 3D por fotopolimerização aditiva. As propriedades de intumescimento dos hidrogéis obtidos mostram que eles poderiam ser utilizados para a absorção de soluções aquosas de doadores de óxido nítrico para liberação localizada. As propriedades mecânicas dos hidrogéis obtidos mostraram que eles possuem propriedades de maciez adequadas para uso como biomateriais em aplicações tópicas.

## REFERÊNCIAS

1. Barreto, R. D. L., Correia, C. R. D., & Muscará, M. N. (2005). Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. *Química nova*, 28, 1046-1054.
2. Stamler, Jonathan S., David J. Singel, and Joseph Loscalzo. "Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms." *Science* 258.5090 (1992): 1898-1902.
3. Ignarro, L. J. "Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication." *Hypertension* 16.5 (1990): 477-483.
4. Qiu, Yong, and Kinam Park. "Environment-sensitive hydrogels for drug delivery." *Advanced drug delivery reviews* 53.3 (2001): 321-339.
5. Zhang, Jie, et al. "Dual thermo- and pH-sensitive poly (N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) hydrogels with rapid response behaviors." *Polymer* 48.6 (2007): 1718-1728.
6. Samah, Nor H. Abu, and Charles M. Heard. "Enhanced in vitro transdermal delivery of caffeine using a temperature- and pH-sensitive nanogel, poly (NIPAM-co-AAc)." *International journal of pharmaceutics* 453.2 (2013): 630-640.
7. Han, M.-J., & Bhattacharyya, D. (1995). Changes in morphology and transport characteristics of polysulfone membranes prepared by different demixing conditions. *Journal of Membrane Science*, 98 (3), 191-200.
8. Ribeiro, C.A., Levya, M.E. and Queiroz, A.A., 2012. A. Síntese eletroiniciada e caracterização de hidrogéis termosensíveis de poli (n-isopropilacrilamida). In 7º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. Natal: SLABO.
9. Sousa, R.G., Magalhães, W.F. and Freitas, R.F., 1998. Glass transition and thermal stability of poly (N-isopropylacrylamide) gels and some of their copolymers with acrylamide. *Polymer degradation and stability*, 61(2), pp.275-281.