



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

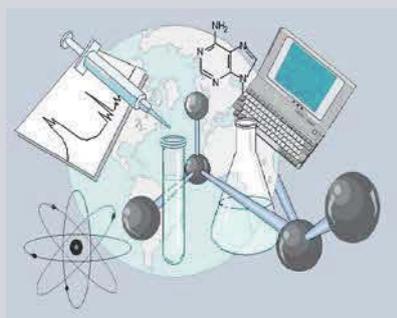
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“Determinação de parâmetros cinéticos e de equilíbrio
para a liberação de solutos a partir de hidrogéis utilizando
o modelo de partição/difusão”**

Dissertação apresentada por **Ricardo Bossoni** ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.



Centro de
Ciências Exatas

MARINGÁ, SETEMBRO 2011



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

Ricardo Bossoni

**“Determinação de parâmetros cinéticos e de equilíbrio
para a liberação de solutos a partir de hidrogéis utilizando
o modelo de partição/difusão”**

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

Orientador: Prof. Dr. Edvani Curti Muniz

MARINGÁ, SETEMBRO 2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

B745d Bossoni, Ricardo
Determinação de parâmetros cinéticos e de equilíbrio para a liberação de solutos a partir de hidrogéis utilizando o modelo de partição/difusão / Ricardo Bossoni. -- Maringá, 2011.
65 f. : il. col., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Edvani Curti Muniz.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, 2011.

1. Sistema de liberação controlada de solutos. 2. Goma arábica. 3. Hidrogel. 4. Modelo de partição/difusão. 5. Diclofenado de potássio. 6. Vitamina B12. 7. Coeficiente de partição. 8. Constante cinética de liberação. I. Muniz, Edvani Curti, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDD 21.ed. 541.3

ECSL-00375



Universidade Estadual de Maringá

Centro de Ciências Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Este é o exemplar definitivo da Dissertação apresentada por **Ricardo Bossoni**, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 29 de setembro de 2011.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Edvani Curti Muniz
Presidente - DQI/UEM

Prof. Dr. Eduardo Radovanovic
Membro - DQI/UEM

Prof. Dr. Douglas Cardoso Dragunski
Membro - UNIPAR

Dedico este trabalho aos meus pais, Diomar e Antonio, à minha esposa, Juciane e a todos que de alguma forma contribuíram para que eu conseguisse alcançar este objetivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, mentor supremo, por ter iluminado meu caminho e por ter me dado a oportunidade de provar que sou capaz de fazer com que um sonho pode ser realizado através da força, dedicação, fé e trabalho.

Aos meus pais, Diomar e Antonio, pelo amor incondicional, pela educação, força, carinho e amizade.

À minha esposa Juciane, pelo amor e carinho incondicional, pelo apoio e pelo amparo em momentos difíceis.

Aos colegas André Riul e Daiane Marques pela ajuda na realização dos experimentos realizados neste trabalho.

A todos os meus amigos que, direta ou indiretamente, me deram força e carinho para continuar a crescer.

Ao Prof. Dr. Edvani Curti Muniz pela atenção, orientação, amizade e apoio.

Aos colegas do bloco 18: Adonilson, Adriano, Alessandro, André Fajardo, Alberto, Cátia, Elisângela, Heveline, Francisco Hélder, Gabriel, Guilherme, Laís, Juliana, Marília, Silvia, Thiago e Vinicius pela amizade e apoio.

A Juliana Piai pelo carinho, pela amizade e pelo auxílio nas discussões deste trabalho.

Ao Claudemir e à Cristina, da secretaria da pós-graduação, pela prestatividade.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

A Universidade Estadual de Maringá, em especial ao Departamento de Química, pela oportunidade.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para que eu pudesse realizar este trabalho.

RELEVÂNCIA DO TEMA ESTUDADO

Hidrogéis são redes de polímeros hidrofílicos capazes de absorver e reter grande quantidade de água e/ou fluídos biológicos juntamente com as substâncias que estão solúveis nestes fluídos. Esta característica despertou um grande interesse dos pesquisadores, pois após o processo de intumescimento e secagem do hidrogel as substâncias que estavam solubilizadas ficam retidas na matriz polimérica. Com isso os hidrogéis apresentam um grande leque de aplicações. Uma aplicação em destaque é a utilização de hidrogéis como dispositivos de liberação controlada de fármacos por via oral. A administração de fármacos por via oral é a mais conveniente e é, geralmente, a mais segura, a de menor custo e, por isso, a mais utilizada. Os fármacos administrados por via oral são absorvidos no trato gastrointestinal. A absorção começa na boca e continua no estômago, mas efetua-se principalmente no intestino delgado. Porém, durante o processo de absorção/digestão o fármaco pode ser atacado quimicamente o que diminui sua quantidade efetiva. Um mecanismo muito utilizado para contornar este obstáculo é a proteção do fármaco através de cápsulas ou com o uso de matrizes poliméricas como hidrogéis. Esta última, desperta um interesse e um desafio em particular: quantificar o fármaco que é liberado da matriz polimérica durante o processo de liberação. A literatura nos traz modelos matemáticos que podem descrever este processo (*Narasimhan, 2001*). Um dos modelos matemáticos mais utilizados, descrito por Peppas (*Brazel e Peppas, 1999*), trata este aspecto como sendo um fenômeno somente de difusão, fato este que limita a aplicação de seu modelo apenas aos primeiros 60% do processo de liberação. Outro modelo desenvolvido recentemente é proposto por Reis *et al* (*2007*) e denominado como modelo de partição/difusão. Naquele trabalho foi proposto que a liberação ocorre como uma associação do processo de difusão e partição e os resultados apresentados descreveram 100% da liberação. Nesta dissertação

procurou-se avaliar como os parâmetros α (coeficiente de partição) e k_L (constante de liberação), que são definidos pelo modelo de Reis *et al.* (2007), e a razão α/k_L dependem do volume no qual o soluto é liberado. Se a hipótese de que a razão α/k_L não depende do volume no qual o soluto é liberado for confirmada, isto poderá aumentar a aplicabilidade do modelo, pois a previsão do perfil completo de liberação de fármacos, a partir de um hidrogel, permite o emprego seguro do sistema hidrogel-fármaco com dosagens precisas, menores custos na produção de produtos farmacêuticos que utilizam esta tecnologia e, conseqüentemente, menos efeitos colaterais aos pacientes.

RESUMO

Recentemente, foi desenvolvido em nosso grupo de pesquisas um modelo alternativo que prevê 100% do perfil de liberação de soluto a partir de hidrogel. Dois parâmetros básicos deste modelo são a determinação da atividade de partição, α e a constante cinética de liberação, k_L . A variação de volume do fluido de liberação influencia os valores dos dois parâmetros, porém há a hipótese de que a razão α/k_L não seja dependente desta mesma variação de volume. Se tal hipótese for verdadeira, a razão α/k_L terá um valor intrínseco para um determinado sistema hidrogel/soluto/fluido não dependente do volume do fluido de liberação o que caracterizaria esta razão como uma propriedade intensiva. A confirmação de tal hipótese consolidaria o modelo baseado na atividade de partição/difusão. No presente estudo foram determinados valores da razão α/k_L para dois solutos distintos, vitamina B₁₂ (VitB₁₂) e diclofenaco de potássio (DFK) aos quais foram submetidos a ensaios de liberação em três temperaturas (25 °C, 35 °C e 45 °C), sendo avaliados, para cada temperatura, três diferentes volumes de fluidos de intumescimento (250 mL, 350 mL e 450 mL). O hidrogel utilizado foi obtido por meio de copolimerização de goma arábica quimicamente modificada com N,N-dimetilacrilamida (GAm-DMAAm), sendo o carregamento do soluto, VitB₁₂ ou DFK, feito durante o processo de gelificação. Foi verificado, para ambos solutos, que a razão α/k_L não depende do volume do fluido de liberação, pois esta razão é praticamente constante nos volumes analisados, para uma determinada temperatura. Foi verificado que a temperatura apresenta-se como um fator importante, influenciando fortemente o processo de liberação de ambos solutos. A variação da temperatura de 25 para 35°C afeta mais intensamente a liberação de DFK da matriz de GAm-DMAAm do que a liberação de VitB₁₂ dessa mesma matriz. Isso foi atribuído a interações eletrostáticas entre grupos carregados negativamente do DFK (R-COO⁻) e a grupos positivamente

carregados na matriz GAM-DMAAm. A determinação da energia de ativação de liberação (Ea_L) dos sistemas analisados apresentaram valores condizentes com a literatura e mostraram um menor valor para o sistema envolvendo a VitB₁₂. Foi inferido que a ausência de interações de maior intensidade, entre o soluto VitB₁₂ e a matriz GAM-DMAAm, é o responsável pelo menor valor de Ea_L deste sistema. Foram calculados os valores de tempo de meia vida de liberação, $t_{1/2}$, para cada ensaio realizado e os resultados corroboraram com as discussões elaboradas para a liberação dos solutos e Ea_L .

Palavras-chave: Goma arábica, sistema de liberação controlada, modelo de partição/difusão, diclofenado de potássio, vitamina B₁₂, coeficiente de partição, constante cinética de liberação.

ABSTRACT

Recently, an alternative mathematic model which predicts 100 % of the solute releasing profile, from a hydrogel, was developed in our research group. This model considers in a same mathematic equation the diffusion and partition effects that occur between the released solute and the matrix. A basic aspect of this model is the obtainment of partition activities values, α , and release kinetic constant, k_L . Although α and k_L depend on many factors, the hypothesis that α/k_L ratio does not depend on the volume in which the swelling was took account. If such hypothesis is true, there will be an intrinsic value for a specific hydrogel/solute/swelling fluid system, being that ratio an intensive property independent on the volume of swelling fluid. The confirmation of that hypothesis would consolidate the model based on the partition/diffusion activities. In the present study, the α/k_L values for two distinct solutes, vitamin B12 (VitB₁₂) and potassium diclofenac (DFK). The “*in situ*” loaded hydrogels were submitted to releasing essays at three different temperatures (25 °C, 35 °C e 45 °C), in which three different volumes (250 mL, 350 mL e 450 mL) of swelling fluid were evaluated at each temperature. The hydrogel used in the experiments was obtained by the copolymerization of N,N-dimethylacrylamide-modified arabic gum (GAm-DMAAm), in the wt-% ratio of 60/40. It was verified the α/k_L ratio was not dependent on the swelling fluid, because the observed values were constant at specific temperature. On the other hand, the temperature presented strong influence in the releasing of both solutes. The increasing in the temperature from 25 to 35 °C influenced much more the DFK release than the VitB₁₂ release, from GAm-DMAAm matrix. This fact was attributed to electrostatic interactions among (R-COO⁻) from DFK and the positive charged groups in the GAm-DMAAm matrix. Besides, the values for the release half-life, $t_{1/2}$, as well as the activation energy for each performed assay were determined.

Keywords: Arabic gum hydrogels, controlled release system, partition/diffusion mathematic model, potassium diclofenac, Vitamin B₁₂, partition coefficient, release constant.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Unidade repetitiva da goma arábica segundo Defaye, 1986. Adaptado de Guilherme <i>et al</i> , 2006.....	02
Figura 2 - Estrutura molecular VitB ₁₂ (A) e diclofenaco de potássio (B).....	15
Figura 3 - Esquema dos possíveis modos de reação da molécula de GMA com polissacarídeos em meio ácido (pH 3,5), adaptado de Reis <i>et al</i> , 2009.....	17
Figura 4 - Espectros de FT-IR de GMA, GA, GAm.....	18
Figura 5 - Espectros de ¹³ C de goma arábica (GA) e goma arábica modificada (GAm).....	19
Figura 6 - Espectros de RMN ¹ H de GA e GAm.....	20
Figura 7 - Micrografias (MEV) hidrogel (GAm-DMAAm), com ampliação de 200X (a), 500X (b) e 1000X (c).....	21
Figura 8 - Micrografias (MEV) hidrogel (GAm-DMAAm/DFK), com ampliação de 200X (a), 500X (b) e 1000X (c).....	21
Figura 9 - Micrografias (MEV) hidrogel (GAm-DMAAm/VitB ₁₂), com ampliação de 200X(a), 500X (b) e 1000X (c).....	21
Figura 10 - Intumescimento dos hidrogéis GAm-DMAAm (60-40) em função do tempo de imersão em soluções de diferentes pH.....	23
Figura 11 - Intumescimento dos hidrogéis GAm-DMAAm (60/40) carregados com VitB ₁₂ em função do tempo de imersão em soluções de diferentes pH.....	24
Figura 12 - Intumescimento dos hidrogéis GAm-DMAAm (60/40) carregados com DFK em função do tempo de imersão em soluções de diferentes pH.....	25
Figura 13 - Esquema da estrutura química do DFK, conforme Reis, 2007(b).....	25
Figura 14 - Dependência de $\ln Fi$ em função de $\ln t$ para determinação do expoente n	27

Figura 15 - Curva analítica de Abs versus concentração de VitB₁₂, mg/L, em fluido de liberação (solução tampão pH 6, $\mu = 0,1$ mol/L).....29

Figura 16 - Termos do lado esquerdo das equações (3) e (5) em função do tempo de liberação de VitB₁₂ a partir dos hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ imerso em 250 mL de fluido de intumescimento, a 25 °C. (A) equação 3; (B) equação 5.....29

Figura 17 - Perfis de liberação de VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ à 250 mL e 25°C, segundo uma liberação de primeira ordem (17A) e segundo uma liberação de segunda ordem (17B).....31

Figura 18 - Perfis de liberação de VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ em diferentes volumes de fluido (A) 350mL e (B) 450mL.....32

Figura 19 - Perfis de liberação de VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ em diferentes volumes de fluido a: (A) 250mL, (B) 350mL e (C) 450 mL todos em temperatura de 35°C.....33

Figura 20 - Perfis de liberação de VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ em diferentes volumes de fluido a: (A) 250mL, (B) 350mL e (C) 450 mL todos em temperatura de 45°C.....34

Figura 21 - Curva analítica de Abs versus concentração de DFK, mg/L, em fluido de liberação (solução tampão pH 6, $\mu = 0,1$ mol/L).....36

Figura 22 - Termos do lado esquerdo das equações (3) e (5) em função do tempo de liberação de DFK a partir dos hidrogéis de GAM-DMAAm/DFK imerso em 250 mL de fluido de intumescimento, a 25 °C. (A) equação 3; (B) equação 5.....37

Figura 23 - Perfis de liberação de DFK a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/DFK à 250 mL e 25°C, segundo uma liberação de primeira ordem (22A) e segundo uma liberação de segunda ordem (22B).....38

Figura 24 - Perfis de liberação de DFK a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/DFK em diferentes volumes de fluido de liberação em (A) 350 mL e (B) 450 mL.....39

Figura 25 - Perfis de liberação de DFK a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/DFK em diferentes volumes de fluido de liberação em (A) 250mL, (B) 350 mL e (C) 450 mL realizados na temperatura de 35°C.....40

Figura 26 - Perfis de liberação de DFK a partir de hidrogéis de GAm-DMAAm/DFK em diferentes volumes de fluido de liberação em (A) 250mL, (B) 350 mL e (C) 450 mL realizados na temperatura de 45°C.....41

Figura 27 - Dependência de α (caracteres preenchidos) e k_L (caracteres vazados) com a temperatura para a liberação de VitB₁₂ e de DFK a partir de hidrogéis de GAm-DMAAm.....43

Figura 28 - Curvas de α/k_L versus temperatura para a liberação de VitB₁₂ e de de DFK a partir de hidrogéis de GAm-DMAAm, nos três volumes de fluídos estudados.....44

Figura 29 - Dependência de $\ln k_L$ com $1/T$ para liberação de DFK e VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAm-DMAAm.....45

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Valores do expoente difusional n para hidrogéis de diferentes formas geométricas.....	07
Tabela 2 – Valores encontrados do parâmetro I_e para os diferentes hidrogéis intumescidos em diferentes pH.....	26
Tabela 3 - Valores encontrados do parâmetro n dos hidrogéis GAM-DMAAm, GAM-DMAAm/VitB ₁₂ , GAM-DMAAm/DFK, em função do pH.....	28
Tabela 4 - Valores de R^2 obtidos a partir das inclinações das retas de acordo com a equação 3 (cinética de liberação de primeira ordem) e equação 5 (cinética de liberação de segunda ordem), para o soluto VitB ₁₂	30
Tabela 5 - Fração máxima liberada (F_{max}) obtida experimentalmente, atividade de partição (α) obtida por aplicação da eq. (2); e os parâmetros, k_L , t_{eq} , $t_{1/2}$, t_{eq} e a razão α/k_L obtidos quando é aplicado o modelo de cinética de primeira ordem para a liberação de VitB ₁₂ , nas diversas temperaturas e no três volumes de fluido externo.....	35
Tabela 6 - Valores de R^2 obtidos a partir das inclinações das retas de acordo com a equação 3 (cinética de liberação de primeira ordem) e equação 5 (cinética de liberação de segunda ordem), para o soluto DFK.....	37
Tabela 7 - Fração máxima liberada (F_{max}) e a atividade de partição (α) obtidos experimentalmente e os parâmetros k_L , t_{eq} , $t_{1/2}$ e a razão α/k_L obtidos quando a liberação de DFK, nos diversos volumes de fluido de liberação e temperatura, e tratada por meio de cinética de segunda ordem.....	42
Tabela 8 - Valores de energia de ativação para a liberação de VitB ₁₂ e de DFK a partir de matriz de GAM-DMAAm, obtidos pela aplicação da equação de Arrhenius.....	46
Tabela A1: Fatores e níveis utilizados no planejamento composto central, 3 ² . Associando os ensaios experimentais às suas respostas obtidos para o soluto vitamina B ₁₂	56
Tabela A2: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3 ² , para a resposta α/k_L , para o soluto vitamina B ₁₂	57

Tabela A3: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta k_L , para o soluto vitamina B₁₂.....57

Tabela A4: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta α , para o soluto vitamina B₁₂.....58

Tabela A5: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta F_L , para o soluto vitamina B₁₂.....59

Tabela A6: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta t_{eq} , para o soluto vitamina B₁₂.....59

Tabela A7: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta $t_{1/2}$, para o soluto vitamina B₁₂.....60

Tabela A8: Fatores e níveis utilizados no planejamento composto central, 3^2 . Associando os ensaios experimentais às suas respostas obtidos para o soluto diclofenaco de potássio61

Tabela A9: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta α/k_L , para o soluto diclofenaco de potássio.....62

Tabela A10: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta k_L , para o soluto diclofenaco de potássio.....62

Tabela A11: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta α , para o soluto diclofenaco de potássio.....63

Tabela A12: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta F_L , para o soluto diclofenaco de potássio.....63

Tabela A13: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta t_{eq} , para o soluto diclofenaco de potássio.....64

Tabela A14: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta $t_{1/2}$, para o soluto diclofenaco de potássio.....64

LISTA DE ABREVIACÕES

3D	tridimensional
ABS	absorbância
AcMet	ácido metacrílico
cm	centímetro
cm ³	centímetro cúbico
D ₂ O	óxido de deutério
DFK	diclofenaco de potássio
DMAAm	N N - dimetilacrilamida
Fig	figura
FT-IR	infravermelho com transformada de Fourier
g	gramas
GA	goma arábica
GAm	goma arábica quimicamente modificada
GAm-DMAAm	hidrogel de goma arábica quimicamente modificada com N N - dimetilacrilamida
GAm-DMAAm/DFK	hidrogel de goma arábica quimicamente modificada com N N - dimetilacrilamida carregado com diclofenaco de potássio
GAm-DMAAm/VitB ₁₂	hidrogel de goma arábica quimicamente modificada com N N - dimetilacrilamida carregado com vitamina B12
GMA	metacrilato de glicidila
h	hora
HCl	ácido clorídrico
KBr	brometo de potássio
KCl	cloreto de potássio
KH ₂ PO ₄	fosfato de potássio monobásico
MEV	microscopia eletrônica de varredura
mg	miligrama
mg/L	miligrama por litro
min	minuto
mL	mililitro
nm	nanômetro

NaOH	hidróxido de sódio
ppm	partes por milhão
RMN ¹ H	ressonância magnética nuclear de próton
RMN ¹³ C	ressonância magnética nuclear do isótopo carbono 13
rpm	rotações por minuto
Semi – IPN	semi interpenetrantes
SPS	persulfato de sódio
Tab	tabela
TMS	tetrametilsilano
UV-Vis	ultravioleta visível
VitB ₁₂	vitamina B12

LISTA DE SÍMBOLOS

μ	força iônica (mol L ⁻¹)
A	fator pré-exponencial para equação de Arrhenius
C_0	massa de fármaco (soluto) inserido em cada amostra de hidrogel (mg)
E_{aL}	energia de ativação de liberação dos solutos (KJ/mol)
F_i	fração de água absorvida pelo hidrogel em um tempo específico
F_L	fração do soluto liberado pelo hidrogel em um tempo específico
F_{Lcalc}	fração do soluto liberado pelo hidrogel em um tempo específico calculado segundo modelo de difusão/partição
F_{Lexp}	fração do soluto liberado pelo hidrogel em um tempo específico obtido experimentalmente
F_{max}	fração do soluto liberado pelo hidrogel quando o sistema atinge o estágio de equilíbrio de liberação
I_e	índice de intumescimento
k	constante de proporcionalidade relacionado à estrutura e geometria do hidrogel
k_L	constante de velocidade de liberação para o modelo de difusão/partição (min para primeira ordem e min ⁻¹ para segunda ordem)
M_{∞}	quantidade de soluto liberada no equilíbrio
M_{eq}	massa da amostra individual de hidrogel intumescido no equilíbrio (g)
M_f	massa soluto (fármaco) adicionado no processo de síntese do hidrogel (g)
M_h	soma das massas de todas as amostras individuais de hidrogel seco e carregado com um determinado soluto (g)
M_i	massa da amostra individual de hidrogel seco, equação 9 (g)
M_s	massa da amostra individual de hidrogel seco, equações 10 e 11, (g)
M_t	quantidade de soluto liberado em um tempo específico, equação 1
M_t	massa da amostra individual de hidrogel intumescido em um tempo específico, equações 10 e 11 (g)
n	expoente difusional

R	constante dos gases ($\text{J K}^{-1}\text{mol}^{-1}$)
R^2	coeficiente de determinação de regressão linear
T	temperatura ($^{\circ}\text{C}$, K)
t	tempo (min, h)
$t_{1/2}$	tempo necessário para que metade do soluto (fármaco) seja liberado do hidrogel (min)
t_{eq}	tempo em que a liberação atinge o estágio de equilíbrio (min)
V	volume (mL)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 GOMA ARÁBICA	1
1.2 HIDROGÉIS	2
1.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA	4
2. OBJETIVOS	12
2.1. OBJETIVO GERAL	12
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3. EXPERIMENTAL	13
3.1 MATERIAIS	13
3.2. MÉTODOS	13
3.2.1. Modificação química da goma arábica	13
3.2.2. Caracterização da modificação da goma arábica	13
3.2.2.1. Caracterização química por espectroscopia FT-IR	13
3.2.2.2. Caracterização química por espectroscopia RMN ^1H e ^{13}C	14
3.2.3. Síntese dos hidrogéis	14
3.2.4. Caracterização dos hidrogéis	15
3.2.4.1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	15
3.2.4.2. Determinação do índice de intumescimento, I_e , e do expoente difusional, n	15
3.2.5. Liberação dos solutos	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	17
4.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MODIFICAÇÃO DA GA POR FT-IR	17
4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MODIFICAÇÃO DA GA POR RMN DE ^{13}C E ^1H	18
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA POR VARREDURA	20
4.4 DETERMINAÇÃO DO INTUMESCIMENTO (I_e) E DO EXPOENTE DIFUSIONAL (n)	21
4.5 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE VITAMINA B ₁₂	28
4.6 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE DICLOFENADO DE POTÁSSIO	35
4.7 CÁLCULO DA ENERGIA DE ATIVAÇÃO	45
5. CONCLUSÕES	49
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

APÊNDICE I - PLANEJAMENTO FATORIAL 55

1. INTRODUÇÃO

1.1 GOMA ARÁBICA

A goma arábica, GA, é uma resina gomosa obtida a partir dos troncos e dos ramos da *Acacia Senegal* ou de outras espécies de *Acacias* africanas. Ela é constituída principalmente por arabina e galactosa, uma mistura complexa de sais de cálcio, magnésio e potássio do ácido arábico (Defaye et al., 1986). A GA é extremamente solúvel em água, podendo formar soluções em diversas concentrações. As soluções de GA possuem baixa viscosidade e boa estabilidade numa faixa de pH de 2 a 10 (Merck Index, 1996). A GA é atóxica e é extensivamente utilizada em formulações farmacêuticas, bem como na maioria das categorias de alimentos processados, principalmente como aditivo fixador de sabor em produtos doces e em alimentos em pó e é também empregada como aditivo na fabricação de sorvetes (Leung et al, 1980). A GA na forma natural não possui propriedades de absorção e retenção de água. A GA não apresenta unidade repetitiva de maneira regular (Defaye et al., 1986), porém, o hexassacarídeo ramificado (Figura 1), pode representar a principal subunidade para esta macromolécula altamente ramificada.

A maioria dos polímeros naturais é preferencialmente utilizada em relação aos materiais sintéticos para liberação de fármacos, pois possuem maior disponibilidade e são mais sujeitos a biodegradação. No entanto, a alta solubilidade dos polissacarídeos em meio aquoso é responsável, geralmente, pela liberação prematura dos solutos nos sistemas de liberação (Reis, 2007 b). Para contornar esta situação e na tentativa de alcançar as aplicações desejadas, em diversos trabalhos os polissacarídeos tem sido quimicamente modificados. Após a modificação química, os polissacarídeos são quimicamente ou fisicamente reticulados para eliminar ou reduzir sua solubilidade em soluções aquosas e, conseqüentemente, prevenir a liberação prematura do soluto. Assim, os hidrogéis preparados através da reticulação química de polissacarídeos modificados apresentam um alto potencial para aplicação como sistemas de liberação. Considerando o potencial de aplicação da GA, Reis et al. (2007 b) modificaram a GA com GMA em meio aquoso através de metodologia proposta em seu trabalho, a qual traz vantagens econômicas, toxicológicas e ambientais quando comparada à outros métodos envolvendo solventes orgânicos citados na literatura (Reis et al., 2006).

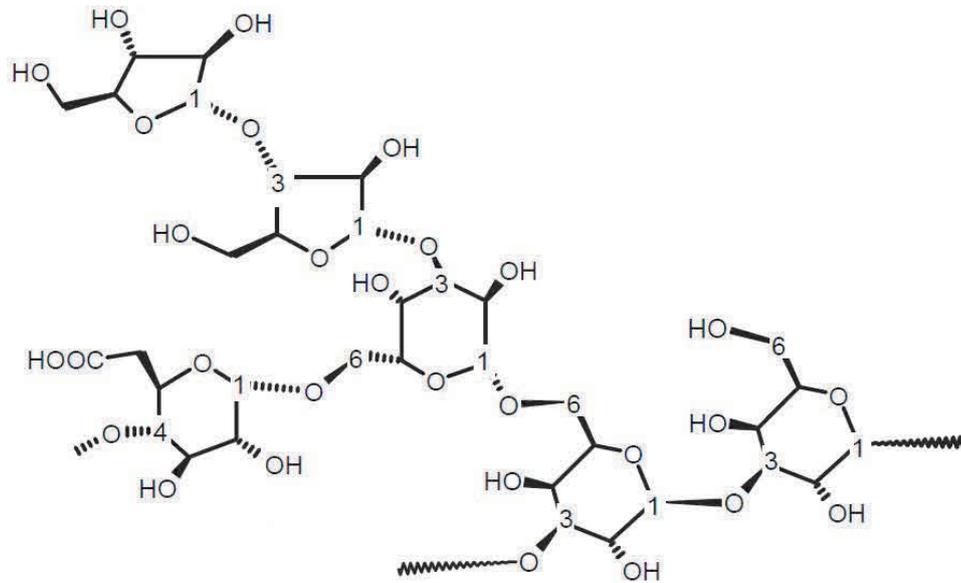


Figura 1: Unidade repetitiva da goma arábica segundo Defaye, 1986. Adaptado de Guilherme et al, 2006.

1.2 HIDROGÉIS

Hidrogéis são formados por cadeias de polímeros, naturais e/ou sintéticos, entrelaçadas e reticuladas por meio de ligações químicas (ligações covalentes formando hidrogéis não reversíveis) ou interações físicas (interações eletrostáticas e/ou ligações de hidrogênio formando hidrogéis reversíveis). Os retículos formados tornam o hidrogel insolúvel e formam uma rede tridimensional (3D) responsável por grande parte das características deste material. A rede 3D de um hidrogel, quando em contato com soluções aquosas, tem a capacidade de absorver e reter água e/ou fluidos biológicos. Assim, pode apresentar propriedades físicas e químicas (elasticidade, hidrofiliabilidade, biodegradabilidade, etc.) não observadas nos polímeros precursores do hidrogel. Tais características físico-químicas são interessantes para aplicação nos campos biomédico e farmacêutico, devido às similaridades com tecidos humanos como: consistência macia e elástica, associada a um alto conteúdo de água. Estas similaridades tornam os hidrogéis mais biocompatíveis que outras classes de materiais e justifica o grande interesse de pesquisadores e suas inúmeras aplicações nos campos biomédico-farmacêutico. (*Van Dijk-Wolthius et al., 1995, 1997; Vervoort et al., 1998, 19981, 1998b; Hofmann et al., 2002; Cavalcanti et al., 2002; Reis et al., 2003, 2006; Gupta et al., 2002*).

Na rede 3D de um hidrogel há a presença de poros que, associados à elasticidade da rede, alteram de tamanho dependendo da quantidade de água absorvida e permitem a

difusão de moléculas dos mais diversos tamanhos por toda a rede. O intumescimento dos hidrogéis em água ocorre porque eles são termodinamicamente compatíveis com este fluido (Peppas *et al.*, 2000; Hoffman, 2002). Este fenômeno permite que os hidrogéis sejam utilizados como sistema de liberação controlada, seja de fármacos em terapias específicas, nutrientes na agricultura, etc. Nos últimos anos, pesquisadores têm-se dedicado a estudos de controle cinético de liberação de solutos utilizando hidrogéis como carreadores, com resultados bem promissores (Valente *et al.*, 2010; Aguzzi *et al.*, 2010; Reis *et al.*, 2007a).

Hidrogéis fazem parte do grupo de sistemas de intumescimento controlado e podem ser classificados como iônicos e neutros. Os principais fatores que afetam o intumescimento de hidrogéis iônicos são o grau de ionização da rede e a natureza dos contra-íons (Gupta *et al.*, 2002). Por exemplo, se uma mudança de pH aumentar o grau de ionização do hidrogel, a rede polimérica fica mais hidrofílica, isso porque o aumento do número de cargas fixas gera maior repulsão eletrostática entre as cadeias (Khare e Peppas, 1995; Lin e Matters, 2006), resultando em uma rede altamente intumescida. Deste modo, a presença de grupos $-NH_2$, $-COOH$, $-CONH_2$, $-SO_3H$, influenciam na hidrofiliabilidade do hidrogel. Dependendo do pH, estes grupos podem tornarem-se ionizados, criando cargas fixas e gerando, como resposta, um aumento no intumescimento. Em redes aniônicas, o grau de ionização da rede aumenta quando o pH do meio de intumescimento for maior que o valor do pK_a do grupo ionizável. Em redes catiônicas o grau de ionização da rede aumenta quando o pH do meio de intumescimento for menor que o pK_b dos grupos ionizáveis (Khare e Peppas, 1995; Gupta *et al.*, 2002; Lin e Matters, 2006). Independente da natureza iônica do hidrogel, o aumento no grau de ionização elevará a hidrofiliabilidade da rede e aumentará o intumescimento do hidrogel. O comportamento de intumescimento dos hidrogéis iônicos também está intimamente relacionado com o movimento de íons e sua cinética de intumescimento não depende somente do pH, mas também dos contra-íons presentes no meio.

Os hidrogéis podem ser denominados “inteligentes” quando possuem habilidade de receber, processar ou transmitir diversos estímulos, respondendo com efeitos que agregam vantagens e geralmente consistem em mudanças nas suas dimensões físicas, propriedades ópticas, comportamento de intumescimento, permeabilidade aos solutos, resistência mecânica, elétrica, magnética, etc. Em síntese, a propriedade de estímulo-

resposta confere aos hidrogéis uma ampla gama de aplicações, dentre as quais podem ser citadas: músculos e peles artificiais, biosensores, sistemas de liberação controlada, lentes de contato, membranas de separação, etc. Em sistemas de liberação controlada, os hidrogéis inteligentes podem mediar ou gerenciar a quantidade de soluto liberado em função do tempo. (Peppas et al., 2000; Gupta et al 2002; Lin e Matters, 2006).

1.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

A indústria farmacêutica destina uma grande parte de seus investimentos em pesquisas para o mecanismo de administração ou entrega de princípio ativo (fármaco) no organismo, cuja ação no organismo já é conhecida e consolidada. Isto ocorre porque o desenvolvimento de uma nova molécula com ação terapêutica a uma determinada patologia requer muito tempo e muito investimento, sem a garantia que esta molécula será efetivamente comercializada. Com isso, nas últimas décadas, sistemas de liberação controlada de fármacos tem sido alvo de muitos estudos, principalmente porque a utilização da maioria dos compostos terapêuticos, já existentes, é sempre wlimitada pela impossibilidade de aumento excessivo de dosagem (Henrique et al., 2006).

Sistemas de liberação controlada oferecem várias vantagens quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos. Nas formas de administração convencionais (*spray*, injeção, pílulas) a concentração da substância ativa na corrente sanguínea apresenta um aumento logo após a administração, atinge um valor máximo (pico) e, então, declina. Desde que cada droga possui uma faixa de ação terapêutica acima da qual é tóxica e abaixo da qual é ineficaz, os níveis plasmáticos são dependentes das dosagens administradas (Azevedo, 2002). Nesse sentido, os sistemas de liberação controlada possuem dois objetivos principais: manter constante a concentração sanguínea de uma determinada droga, assegurando maior biodisponibilidade da mesma, e reduzir os efeitos colaterais, realçando a adesão do paciente ao tratamento com menor número de dosagens.

Compreender os mecanismos de transporte do soluto através do hidrogel e identificar os parâmetros-chave que governam a liberação são etapas cruciais no desenvolvimento de sistemas e modelos de liberação (Lin e Matters, 2006). Os sistemas de liberação podem ser classificados segundo os parâmetros controladores da velocidade de liberação, ou seja, um dispositivo que tem como etapa limitante a difusão será classificado como sistema de liberação controlado por difusão. Assim diversos

modelos matemáticos têm sido desenvolvidos com intuito de prever a quantidade de soluto liberado com o tempo a partir dos dispositivos poliméricos e baseiam-se na etapa limitante da velocidade de liberação. Em geral as principais categorias destes Sistemas/Modelos enquadram-se nas seguintes categorias (*Ranade e Hollinger, 2004*):

- Etapa limitante: difusão / Modelo de liberação controlado por difusão;
- Etapa limitante: intumescimento / Modelo de liberação controlado por intumescimento;
- Etapa limitante: osmose / Modelo de liberação controlado osmoticamente;
- Etapa limitante: degradação química / Modelo de liberação controlado por degradação química;
- Etapa limitante: dissolução / Modelo de liberação controlado por dissolução;

A seleção do método de carregamento do soluto no hidrogel também determina o mecanismo pelo qual o soluto será liberado a partir do hidrogel. A incorporação do soluto no hidrogel pode ser feita de duas formas: pós-carregamento e carregamento *in-situ*. No pós-carregamento a absorção de soluto é feita após a formação do hidrogel e a liberação pode ser controlada por difusão e intumescimento. No carregamento *in-situ*, o soluto é misturado na solução precursora antes do processo de gelificação. Deste modo, a formação do hidrogel e o carregamento do soluto ocorrem simultaneamente, assim a liberação pode ser controlada por difusão, intumescimento, interações soluto-polímero ou por degradação da rede de hidrogel. (*Ranade e Hollinger, 2004; Lin e Matters, 2006*).

Embora existam vários modelos que descrevam a liberação de solutos a partir de dispositivos de liberação controlada, será feita uma breve discussão sobre os modelos onde a liberação é controlada pela difusão e pelo intumescimento, uma vez que estes modelos tem sido amplamente aplicados em estudos de liberação de soluto a partir de hidrogéis e são a base para o modelo de liberação controlada de partição/difusão proposto por Reis *et al*, 2007.

Os modelos de liberação controlada por difusão são os mais utilizados para descrever a liberação de soluto a partir dos hidrogéis. Quando o soluto é encapsulado, ou seja, isolado do meio externo, o sistema de liberação é chamado de sistema

reservatório. Se o soluto é incorporado de modo uniforme à rede 3D de polímeros o sistema é chamado de sistema matricial (*Ranade e Hollinger, 2004*).

Sendo um sistema do tipo reservatório, a liberação do soluto é gerenciada pelo invólucro polimérico e pode ser matematicamente descrita pela primeira lei de Fick (*Lin e Matters, 2006*) que relaciona o fluxo de material em um sistema com seu gradiente de concentração, ou seja, sempre que existir variação na concentração do soluto em relação a uma coordenada espacial, haverá fluxo de soluto nesta direção. (*Amidon et al., 2000; Kim, 2003*). Sendo assim, a velocidade de liberação de soluto a partir dos sistemas reservatórios é independente do tempo.

Nos sistemas matriciais, a difusão unidimensional do soluto através da matriz pode ser descrita utilizando a segunda lei de Fick (*Lin e Matters, 2006*) que descreve que a distribuição da concentração do soluto num sistema tem dependência temporal e espacial, i. e., a liberação de soluto dos dispositivos de liberação tipo matricial é também dependente do tempo.

Quando o sistema de liberação é controlado por intumescimento, a liberação inicia-se a partir da interface vítreo-elástica do hidrogel durante o intumescimento (*Siepmann e Peppas, 2001*). Se a matriz polimérica for resistente à transição de fase, o avanço da interface vítreo-elástica para o interior do hidrogel é lento, assim o hidrogel possuirá baixa velocidade de intumescimento e, conseqüentemente, baixa velocidade de liberação do soluto nele incorporado. Nesta interface ocorre o fenômeno de relaxamento macromolecular e sua importância pode ser avaliada ajustando os dados experimentais de liberação na equação (1) para determinar o expoente difusional n (*Kim et al., 1992; Brazel e Peppas, 1999; Lin e Matters, 2006; Ritger e Peppas, 1987 A - B; Amidon et al., 2000; Siepmann e Peppas, 2001*).

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

Sendo k uma constante de proporcionalidade que tem relação com a estrutura e a geometria do hidrogel, n é o expoente de difusão e representa o mecanismo de liberação (*Ritger E Peppas, 1987(a), 1987(b); Amidon et al., 2000; Siepmann e Peppas, 2001*). Os termos M_t e M_∞ representam respectivamente, a quantidade de soluto liberada em um determinado tempo t e a quantidade de soluto liberada no equilíbrio. Desta forma, a

razão M_t/M_∞ representa a fração de soluto liberado em um tempo t . É importante ressaltar que esta relação semi-empírica, conhecida como modelo de Peppas, é válida somente para um determinado intervalo de tempo, i. e., até o tempo no qual 60% da quantidade inicial de soluto é liberada (Ritger e Peppas, 1987 A - B).

Dois valores específicos do expoente n são associados a comportamentos físicos distintos:

Quando $n = 0,5$: a liberação do soluto é controlada pelo fenômeno da difusão.

Quando $n = 1,0$: a liberação do soluto é controlada pelo relaxamento macromolecular, ou seja, pelo fenômeno de intumescimento do hidrogel.

Neste último caso, a velocidade de liberação do soluto será independente do tempo e a cinética de liberação terá ordem zero, também conhecido como transporte Caso II. Quando o valor de n ficar entre 0,5 e 1,0 considera-se um indicativo da sobreposição ou existência simultânea de ambos os fenômenos durante a liberação. Neste caso, a liberação de soluto é considerada anômala. Os dois extremos do expoente n são válidos somente para dispositivos com forma geométrica de blocos ou filmes finos. Para sistemas de liberação com geometrias esférica e cilíndrica estes valores são diferentes (Ritger e Peppas, 1987 A - B). Na Tabela 1 são relacionados os mecanismos de liberação com os valores de n para as diferentes formas geométricas das matrizes de liberação.

Tabela 1 – Valores do expoente difusional n para hidrogéis de diferentes formas geométricas.

Valores do expoente n			Mecanismo de liberação do soluto
Blocos ou Filmes finos	Cilindros	Esferas	
0,5	0,45	0,43	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transporte anômalo
1,0	0,89		Relaxamento macromolecular

Vários são os modelos matemáticos que buscam descrever a liberação de um soluto a partir de um hidrogel, mas é fato que os modelos até então desenvolvidos para a

liberação controlada, por difusão ou por intumescimento, têm se limitado em explicar a liberação do soluto somente em termos de difusão e relaxamento macromolecular. Além disso, o modelo semi-empírico amplamente utilizado (equação 1, também conhecido como Power Law) é válido somente para os 60% iniciais da quantidade de soluto liberado no processo de liberação e o coeficiente difusional n só é usado para algumas formas geométricas definidas (Reis, 2007 B). Com o objetivo de contornar as limitações dos modelos existentes e disponibilizar um modelo alternativo, Reis *et al.*, (2007 B) propuseram um modelo de liberação ao qual considera a liberação como um fenômeno conjunto que envolve a partição e a difusão. Desta forma foi denominado como modelo de partição/difusão. Neste modelo são consideradas as afinidades físicas e químicas entre o soluto e o hidrogel e também as afinidades do soluto com o solvente. Baseado neste princípio, foram desenvolvidas as equações pertinentes, como publicado por Reis *et al.* (2007 A), as quais foram eficientes para descrever o perfil inteiro de liberação dos solutos no trabalho de Reis *et al.* (2007 B) e em trabalhos subseqüentes desenvolvidos por outros autores (Valente *et al.*, 2010; Piai *et al.*, 2009; Valente *et al.*, 2011).

Neste modelo, a fração de soluto liberado, F_L , está relacionada com a distribuição do soluto na matriz e no fluido externo à matriz, a qual foi designada como atividade de partição (α) que quantifica o fenômeno de partição (Reis *et al.*, 2007 A). Existindo a partição ocorrerá difusão do soluto entre o hidrogel e o fluido externo (de intumescimento). Após um determinado tempo, será atingido o equilíbrio na liberação. Assim, após atingido o equilíbrio o parâmetro α apresentará um valor constante, estágio em que a velocidade de liberação de soluto a partir do hidrogel torna-se igual à velocidade de absorção do soluto pelo hidrogel. Nas condições de equilíbrio a fração de soluto liberado assume um valor máximo, denominada como F_{max} . Desta forma, o valor de α pode ser calculado a partir de F_{max} utilizando a equação

$$\alpha = \frac{F_{max}}{1-F_{max}} \quad (2)$$

Como a liberação do soluto a partir do hidrogel é tratada como um fenômeno de partição, além de difusão, o valor do parâmetro α é correlacionado com a ocorrência ou não da partição. Seu valor expressa a afinidade física e química do soluto entre o hidrogel e o solvente. Conforme Reis *et al.*, (2007 B), quando o termo $\alpha > 0$ ocorre a difusão do soluto entre as fases hidrogel e fluido externo (solvente ou meio de

intumescimento). Quanto maior o valor de α , maior é a partição do soluto no fluido externo.

Considerando a liberação do soluto como reversível e aplicando argumentos matemáticos pertinentes, Reis *et al.*, (2007 B) desenvolveram equações que descrevem a liberação associada às cinéticas de primeira ou de segunda ordem, como apresentadas abaixo.

A fração de soluto liberado, F_L , em um tempo t , relacionado à cinética reversível de primeira ordem pode ser calculada a partir da seguinte equação

$$F_{max} \ln \left(\frac{F_{max}}{F_{max} - F_L} \right) = k_L t \quad (3)$$

Rearranjando a equação (3), obtém-se a equação

$$F_L = F_{max} (1 - e^{-(k_L/F_{max})t}) \quad (4)$$

que pode ser utilizada na previsão do valor de F_L em qualquer tempo t para cinética de liberação reversível de primeira ordem, se os valores de k_L e F_{max} são conhecidos.

Se a liberação do soluto segue cinética de liberação reversível de segunda ordem a equação

$$\frac{\alpha}{2} \ln \left(\frac{F_L - 2F_L F_{max} + F_{max}}{F_{max} - F_L} \right) = k_L t \quad (5)$$

descreve o perfil de liberação e se reescrita na seguinte forma

$$F_L = \frac{F_{max} (e^{2(k_L/\alpha)t} - 1)}{1 - 2F_{max} + e^{2(k_L/\alpha)t}} \quad (6)$$

pode ser utilizada na previsão de F_L em qualquer tempo t para cinética de liberação de segunda ordem se os valores de α , k_L e F_{max} são conhecidos. As equações propostas pelo modelo de partição/difusão também permitem a previsão do tempo necessário para que metade do soluto contido no hidrogel seja liberada, $t_{1/2}$. Para isso, utiliza-se das equações (3) e (5) substituindo-se em ambas equações o termo F_{max} por $\frac{1}{2} F_{max}$. assim as equações (3) e (5) tornam-se respectivamente

$$t_{1/2} = \frac{F_{max}}{k_L} \ln 2 \quad (7)$$

$$t_{1/2} = \frac{\alpha}{2k_L} \ln (3 - 2F_{max}) \quad (8)$$

Os valores de F_L , em qualquer tempo, dependem dos valores dos termos k_L e F_{max} e este último, de acordo com a eq. (2), está relacionado com o valor de α . Assim, por sua vez, os valores de F_L dependem das condições de temperatura, pressão, pH, força iônica, geometria do hidrogel, etc. Portanto, trata-se de uma equação que pode apresentar inúmeras respostas a depender das condições impostas pelo sistema analisado. No trabalho de Reis *et al.*, (2007 b), os autores avaliaram a liberação de solutos (vitamina B₁₂, azul de metileno e ácido alaranjado 7) a partir de hidrogéis semi-IPN de poliacrilamida e poli(N-isopropil acrilamida) utilizando um volume fixo (25 mL) e também a liberação do soluto diclofenaco de potássio a partir de hidrogéis de goma arábica quimicamente modificada com metacrilato de glicidila (GMA) e copolimerizada com N,N-dimetilacrilamida (DMAAm) e ácido metacrílico (AcMet), utilizando um volume fixo (250 mL) de fluido de liberação. Apesar da robustez apresentada pelo modelo proposto na descrição dos dados de liberação obtidos naquele sistema, não foi respondida a seguinte questão: ao se variar, para um mesmo sistema hidrogel-soluto, o volume do fluido no qual a liberação ocorre, os parâmetros α e k_L também variam? Se a resposta para a questão anterior for positiva, os parâmetros α e k_L deveriam ser considerados extensivos. Se isto ocorrer, outra hipótese pode ser levantada: caso os valores de α e k_L sejam afetados pela variação de volume do fluido em uma mesma intensidade, a razão α/k_L não deveria variar com a variação volume do fluido e, portanto, deveria ser considerada propriedade intensiva. Isto é, a razão α/k_L deveria ser considerada uma propriedade intrínseca para a liberação considerando-se um determinado sistema soluto-hidrogel-solvente.

Com o intuito de responder a questão e investigar a hipótese acima levantadas, foram desenvolvidos, neste trabalho, estudos de liberação de vitamina B₁₂ (VitB₁₂) e diclofenaco de potássio (DFK) a partir de hidrogéis em três diferentes volumes de fluido externo, e em três diferentes temperaturas. Os hidrogéis utilizados neste trabalho são constituídos de goma arábica quimicamente modificada (GAm) utilizando metacrilato de glicidila (GMA) como agente de modificação e copolimerizada com N,N-

dimetilacrilamida (DMAAm). A matriz foi denominada GAM-DMAAm. O carregamento do soluto, VitB₁₂ ou DFK, foi realizado durante o processo de gelificação. Além de avaliar o efeito do volume do fluido nos valores de α , de k_L e da razão α/k_L , foram determinados, também, a partir do modelo de partição os valores de tempo de meia vida de liberação, $t_{1/2}$, para cada ensaio realizado e, a partir da dependência de k_L com a temperatura, foram determinados os valores de energia de ativação do processo de liberação dos solutos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desta dissertação foi sintetizar hidrogéis de goma arábica quimicamente modificada, para utilização em sistema de liberação controlada e aplicar o modelo de liberação partição/difusão proposto por Reis *et al.* (2007 B) com a finalidade de avaliar parâmetros cinéticos e de equilíbrio do modelo.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i) modificar quimicamente a goma arábica em meio aquoso por reação com metacrilato de glicidila;
- ii) sintetizar hidrogéis por copolimerização com monômeros acrílicos (N,N-dimetilacrilamida);
- iii) determinar parâmetros cinéticos e de equilíbrio para a liberação dos solutos vitamina B₁₂ e diclofenaco de potássio utilizando o modelo de partição/difusão (Reis *et al.*, 2007 B);
- iv) investigar a razão α/k_L utilizando o modelo de (Reis *et al.*, 2007 B) para hidrogéis de goma arábica modificada, em temperaturas de 25°C, 35°C e 45°C sendo para cada temperatura utilizar três volumes (250mL, 350mL e 450mL) usando vitamina B₁₂ e diclofenaco de potássio como solutos;
- v) determinar a energia de ativação de liberação, E_{a_L} , de cada sistema hidrogel/soluto/fluído aplicando a equação de Arrhenius;

3. EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS

Goma Arábica (GA, CAS: 9000-01-5, Company – Sudan); metacrilato de glicidila (GMA, 97%, CAS: 106-91-2, Fluka Analytical); álcool etílico (99,5 %, CAS 60-17-5, Nuclear); persulfato de sódio (SPS, 99%, CAS: 7775-27-1, Vetec); ácido clorídrico (HCl, 36,5 – 38 %, CAS: 7647-010, Nuclear); N,N-dimetilacrilamida (DMAAm, 99%, CAS: 2680-07-7, Aldrich), hidróxido de sódio (NaOH, 97%, CAS: 1310-73-2, Vetec), cloreto de potássio (KCl, 99 %, CAS: 7447-40-7), fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄, 98%, 7778-77-0, cianocobalamina (VitB₁₂, 98,66 %, CAS: 68-19-9, Pharma Nostra, Maringá-PR, Brasil), diclofenaco de potássio (DFK, 100 ± 1 %, CAS: 15307-79-6, Pharma Nostra, Maringá-PR, Brasil).

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Modificação química da goma arábica

Para a modificação química da goma arábica (GA), foram solubilizados 75 g de GA em 500 mL de água destilada e deionizada sob forte agitação. Após a solubilização, o pH foi ajustado para 3,5 utilizando-se ácido clorídrico (HCl) concentrado e, então, foram adicionados 6,0 mL de metacrilato de glicidila (GMA). A reação se processou durante 12 h com agitação constante e com temperatura fixada em 65 °C. Em seguida, foi precipitado em etanol e filtrado à pressão reduzida. Repetiu este ciclo de precipitação e filtração e, por fim, o filtrado foi liofilizado por 24 h.

3.2.2. Caracterização da modificação da goma arábica

3.2.2.1. *Caracterização química por espectroscopia FT-IR*

Espectros de infravermelho foram obtidos no equipamento Bomem FT-IR modelo MB100 com transformada de Fourier. Amostras liofilizadas da GA e da GAM em pó, foram misturadas com KBr e prensadas até obter a forma de pastilha. Amostra de GMA, no estado líquido, foi colocada entre duas placas de KBr. Para cada espectro obtido, foram feitas 128 varreduras com resolução de 2 cm⁻¹.

3.2.2.2. Caracterização química por espectroscopia RMN ^1H e ^{13}C

Os espectros de RMN ^1H e de RMN ^{13}C foram realizados em um equipamento Varian modelo Mercury Plus BB, 300 MHz, operando a 300,059 MHz para o núcleo de ^1H e 75,457 MHz para o núcleo de ^{13}C . Espectros da GA e GAm foram obtidos, separadamente, em solução de água deuterada (D_2O) com 0,05% de tetrametilsilano (TMS).

3.2.3. Síntese dos hidrogéis

Na síntese dos hidrogéis, optou-se por carregamento dos fármacos *in-situ*, ou seja, a formação do gel e o carregamento do fármaco (VitB₁₂ ou DFK) ocorrem de forma simultânea. Para isso, foram solubilizados 4,5 g de GAm em água destilada, em seguida foram adicionados 3,0 g de DMAAm e 110 mg de persulfato de sódio (SPS), completando o volume em 50 mL, perfazendo uma solução 15% m/v. Após a dissolução desses reagentes, foram adicionados, em soluções separadas, o respectivo soluto até solubilizá-lo totalmente (105,5 mg de VitB₁₂; ou 116,5 mg de DFK). Foram sintetizados hidrogéis de composição 60-40 em que corresponde a porcentagem em massa de GAm e DMAAm, respectivamente, carregados com VitB₁₂ ($\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$, Figura 1A) e com DFK ($\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{KNO}_2$, Figura 1B). Os géis foram denominados GAm-DMAAm/VitB₁₂ para o hidrogel carregado com VitB₁₂ e GAm-DMAAm/DFK para o hidrogel carregado com diclofenaco de potássio. A solução obtida, em cada caso, foi colocada em moldes cilíndricos e aquecida a 75 °C por 30 min para a reticulação e, por conseguinte, obtenção do hidrogel. Também foram sintetizados hidrogéis compostos somente por GAm e DMAAm (60-40) denominado GAm-DMAAm, que foram utilizados como controle.

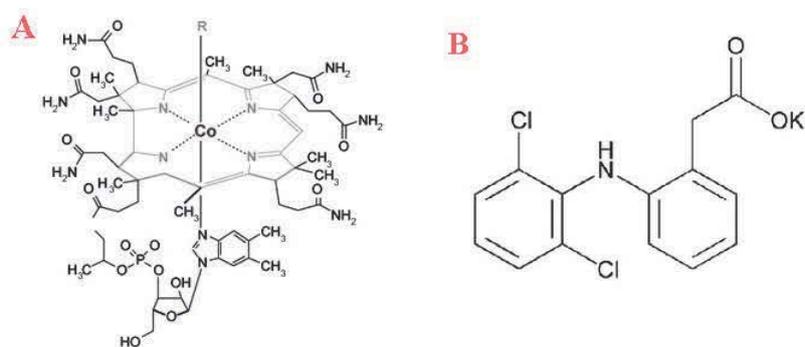


Figura 2: Estrutura molecular VitB₁₂ (A) e diclofenaco de potássio (B).

3.2.4. Caracterização dos hidrogéis

3.2.4.1. *Microscopia eletrônica de varredura (MEV)*

Amostras de hidrogéis GAM-DMAAm, GAM-DMAAm/VitB₁₂ e GAM-DMAAm/DFK intumescidos foram congelados em N₂ líquido e, em seguida, liofilizados por 24 horas. As amostras foram fraturadas e a face fraturada foi metalizada para análise da morfologia através de MEV, realizada em um equipamento da marca Shimadzu, modelo SS-550.

3.2.4.2. *Determinação do índice de intumescimento, I_e , e do expoente difusional, n .*

As amostras de hidrogéis (em forma de pastilhas cilíndricas) a ser utilizadas no estudo de intumescimento foram preparadas da seguinte forma: logo após a síntese os hidrogéis (GAM-DMAAm, GAM-DMAAm/VitB₁₂ e GAM-DMAAm/DFK) foram fracionados em volumes de aproximadamente 1 cm³ e secos por 48 h em temperatura ambiente e por mais 12 h em estufa a 40 °C sob ventilação. Já secas, as amostras foram separadas e individualmente pesadas. As amostras dos hidrogéis, com massa conhecida, foram inseridas em solução pH 2 (HCl) e solução tampão pH 4, pH 6 e pH 8 (KH₂PO₄/NaOH) todas com força iônica (μ) constante de 0,1 mol L⁻¹ ajustada com KCl, a fim de avaliar a influência do soluto carregado em seu perfil de intumescimento e determinar o mecanismo de captação de água em que o hidrogel sofre durante o intumescimento. Em tempos pré-determinados as amostras de géis foram coletadas, secas na superfície, pesadas e em seguida devolvidas nas soluções correspondentes. As determinações foram feitas em triplicatas.

3.2.5. Liberação dos solutos

As amostras de hidrogéis utilizadas no processo de liberação foram preparadas segundo metodologia citada no item 3.2.4.2. A quantidade de soluto inserida em cada amostra de hidrogel utilizada para o processo de liberação, C_0 , foi determinada usando a equação

$$C_0 = \frac{M_i M_f}{M_h} \quad (9)$$

onde M_i é massa da amostra individual de hidrogel seco e carregado; M_f é a massa do soluto (fármaco) adicionado no processo de síntese; e M_h é a soma das massas de todas as amostras individuais de hidrogel seco e carregado com um determinado soluto.

Para os ensaios de liberação, diferentes amostras dos hidrogéis secos contendo quantidades de soluto, C_o , previamente determinadas, foram imersas tampão pH = 6,0 ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$) e força iônica ($\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) ajustada com KCl que atuou como um fluido de liberação. Em seguida, foram colocadas em um dissolutor, com agitação constante de 50 rpm, nas temperaturas de 25 °C, 35 °C e 45 °C e, em cada temperatura, foram usados os volumes de fluido de liberação de 250 mL, 350 mL e 450 mL. Em tempos pré-estabelecidos, alíquotas de 3 mL da solução sobrenadante foram coletadas em recipientes específicos (cubetas) e a absorvância do fármaco presente na alíquota foi medida por UV-Vis. Para a VitB₁₂ e para o DFK foram usados, respectivamente, os comprimentos de onda (λ) de 358 nm e 271 nm. As medidas de absorvância foram feitas em um espectrofotômetro UV-Vis modelo UV MINI 1240 da marca Shimadzu. Após cada medida, as alíquotas, em triplicatas, foram retornadas ao recipiente do dissolutor.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MODIFICAÇÃO DA GA POR FT-IR.

A modificação de polissacarídeos com GMA pode ocorrer em meio aquoso e é dependente do pH. Em meio ácido (pH 3,5) o GMA pode reagir tanto com grupos alcoóis como com grupos carboxílicos, contidos no polissacarídeo, por via de abertura do anel epóxido (Reis *et al*, 2009). A figura 3 mostra um esquema das possibilidades de reação entre o GMA e o polissacarídeo.

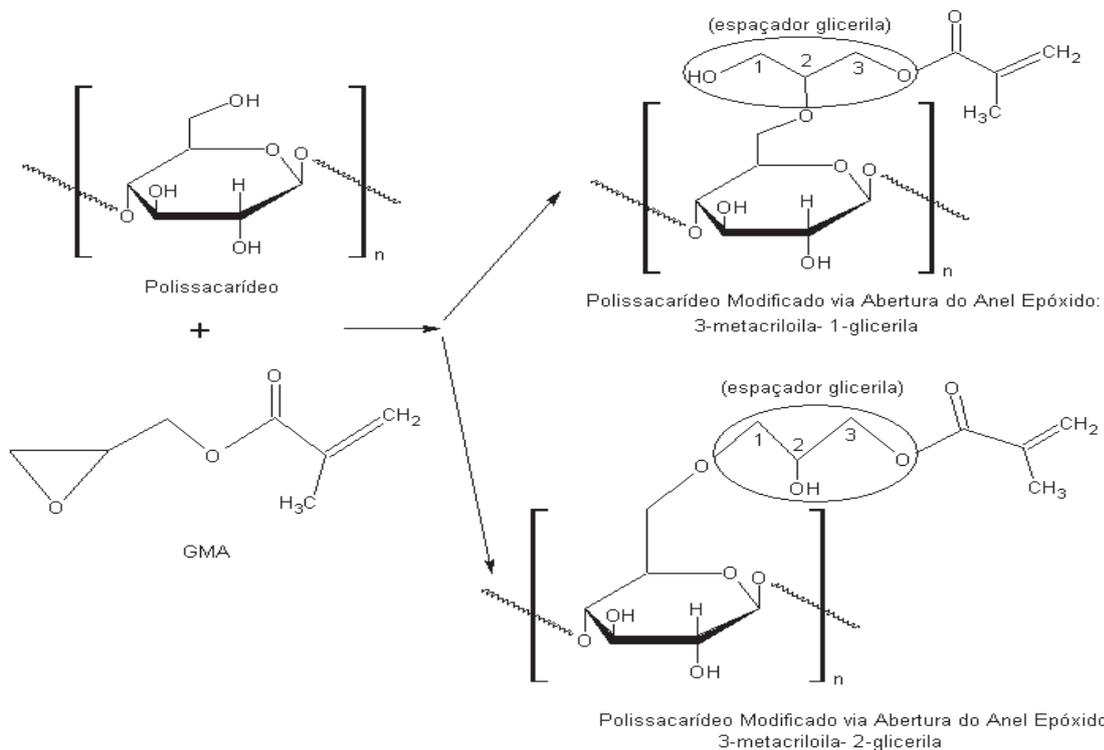


Figura 3: Esquema dos possíveis modos de reação da molécula de GMA com polissacarídeos em meio ácido (pH 3,5), adaptado de Reis *et al*, 2009.

Desta forma, em qualquer um dos produtos formados a presença de sinais correspondentes as vibrações de ligações C=C conjugadas e sinais correspondentes as vibrações de ligações C=O conjugadas confirmam que a reação entre GMA e GA (polissacarídeo) realmente ocorreu.

A Figura 4 mostra os espectros de FT-IR de GMA, GA, GAm.

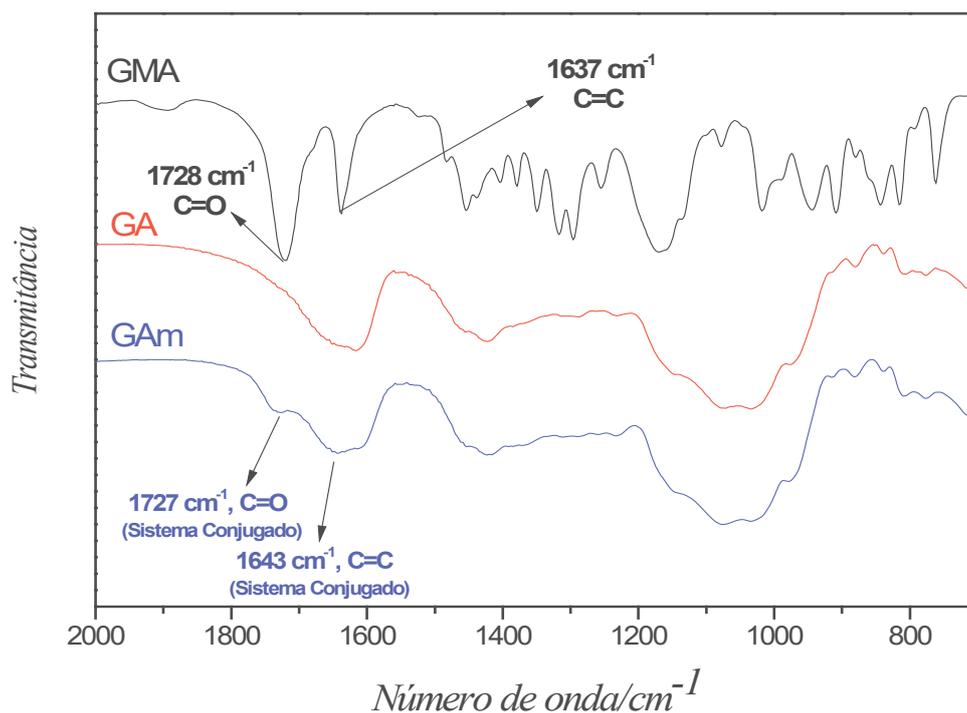


Figura 4: Espectros de FT-IR de GMA, GA, GAm.

Com a análise da Figura 4, pode-se perceber no espectro de FT-IR da GAm o aparecimento de bandas nas regiões de 1727 cm^{-1} que foram atribuídas aos grupos carbonílicos conjugados originários do GMA. Também foi observado uma mudança no espectro da GAm na região em 1643 cm^{-1} que foi atribuída às vibrações dos carbonos vinílicos (C=C) originários da GMA. Apesar das diferenças espectrais da GA e da GAm aparecerem de forma muito discretas, há evidências de que o GMA efetivamente reagiu com a GA.

4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MODIFICAÇÃO DA GA POR RMN DE ^{13}C E ^1H .

Espectros de RMN ^{13}C do GMA, da GA e da GAm são apresentados na Figura 5, sendo visualizados sinais em $\delta\ 138,33\text{ ppm}$ e $\delta\ 130,25\text{ ppm}$ atribuídos a carbonos vinílicos. Também são visualizados sinais em $\delta\ 60,19\text{ ppm}$ e $\delta\ 55,63\text{ ppm}$ que caracterizam a presença do conjunto espaçador glicerila (Fig 3). Estes grupos não são encontrados na estrutura da GA, sendo procedentes do GMA. Assim o aparecimento dos sinais referentes a eles, é outro indício de que a reação de modificação da GA ocorreu.

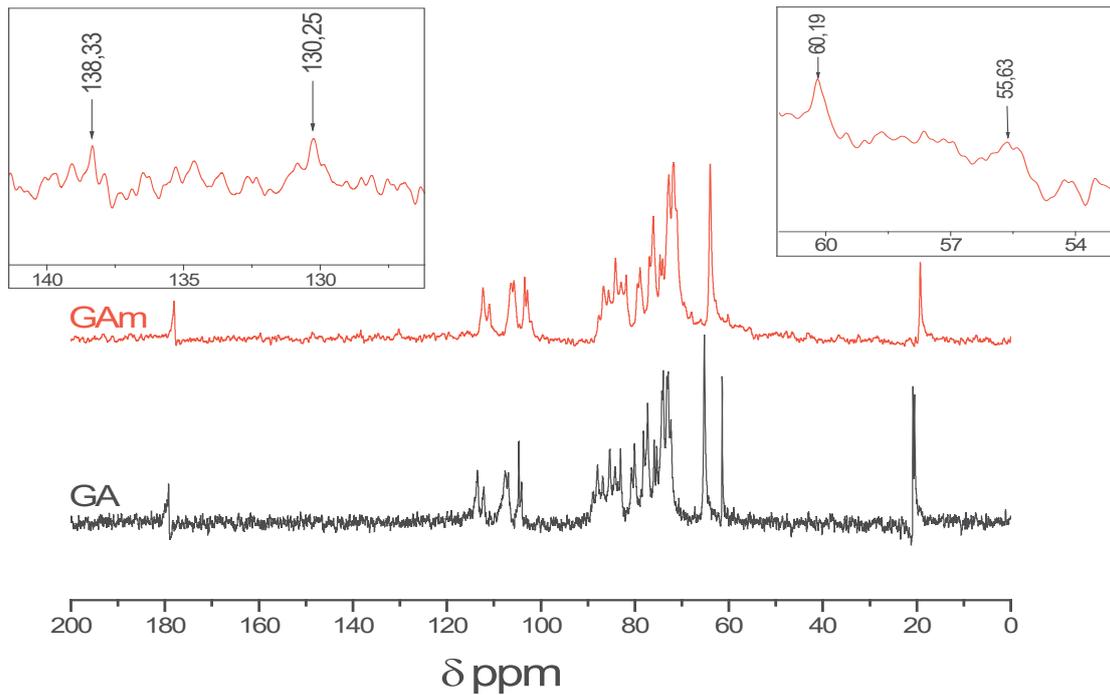


Figura 5: Espectros de ^{13}C de goma arábica (GA) e goma arábica modificada (GAm).

Espectros de RMN ^1H da GA e da GAm são apresentados na Figura 6. No espectro da GAm aparecem sinais em δ 6,199 ppm, δ 5,786 ppm e δ 5,032 ppm que foram atribuídos aos prótons vinílicos procedentes do GMA. O sinal observado em δ 1,956 ppm foi atribuído aos prótons ligados aos grupos metílicos originários do grupamento metacrilóila. A presença do sinal em δ 3,572 ppm foi atribuída ao próton ligado ao carbono quiral presente no espaçador glicerila (fig 3), gerado na reação entre o GMA e GA por via de abertura do anel epóxido (Reis et al, 2009). O aparecimento destes sinais, provenientes do GMA, confirma a modificação da goma arábica pela reação com GMA.

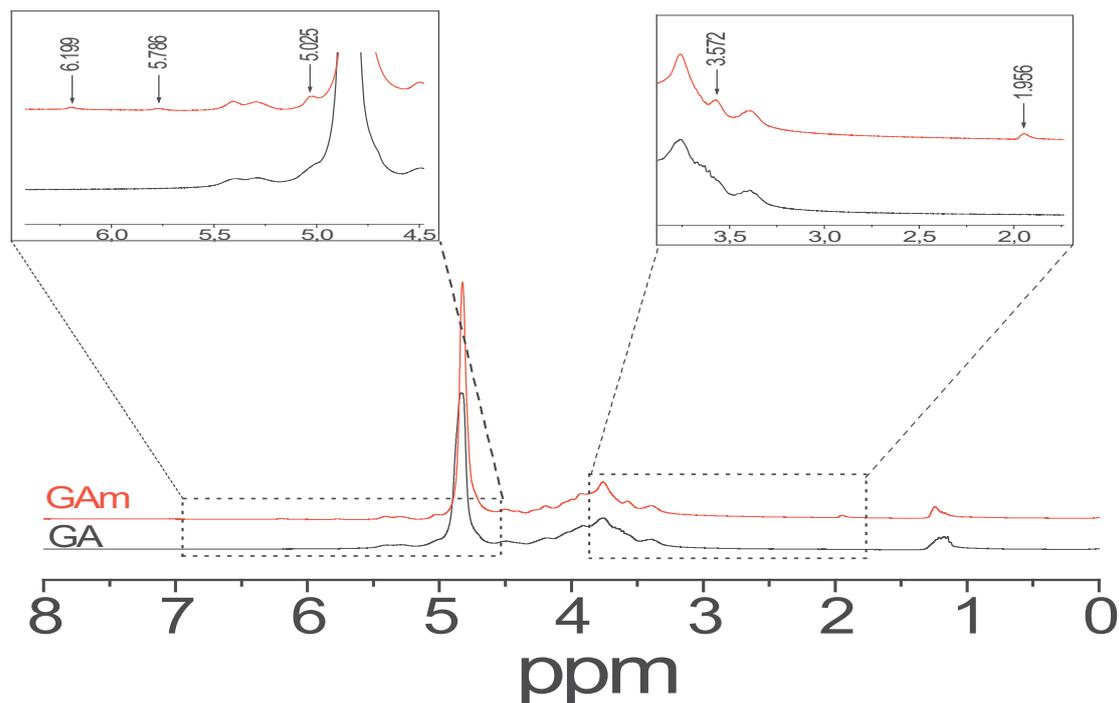


Figura 6: Espectros de RMN ^1H de GA e GAm.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA POR VARREDURA

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do hidrogel GAm-DMAAm são apresentadas na Figura 7. Nelas pode-se observar a formação de poros cujos tamanhos apresentam-se de forma heterogênea. A reticulação ocorre devido à presença de grupos vinílicos presentes nas cadeias da GAm. A alta porosidade é mais um indício que o material reticulado formado é um hidrogel. Outras micrografias dos hidrogéis carregados com os solutos são apresentadas na Figura 9 (hidrogel GAm-DMMAm/DFK) e Figura 10 (hidrogel GAm-DMMAm/VitB₁₂).

Na Figura 8 o hidrogel carregado com DFK apresenta uma estrutura porosa, assim como o hidrogel de GAm-DMAAm. Porém, os poros apresentam-se relativamente homogêneos e cujas dimensões não são muito diferentes, quando comparados os diversos poros. Assim, isto implica em uma estrutura mais ordenada. As micrografias indicam que este hidrogel tem aspecto folheado (Figura 8B e 8C), como as observadas por Auoada *et al.*, (2005) em hidrogéis de poliacrilamida contendo cristais líquido.

Novamente, a estrutura porosa é visualizada para o hidrogel carregado com VitB₁₂ (Figura 9). Nesta pode-se observar que os poros apresentam-se de forma e dimensões heterogêneas, semelhante ao observado para o hidrogel GAm-DMAAm.

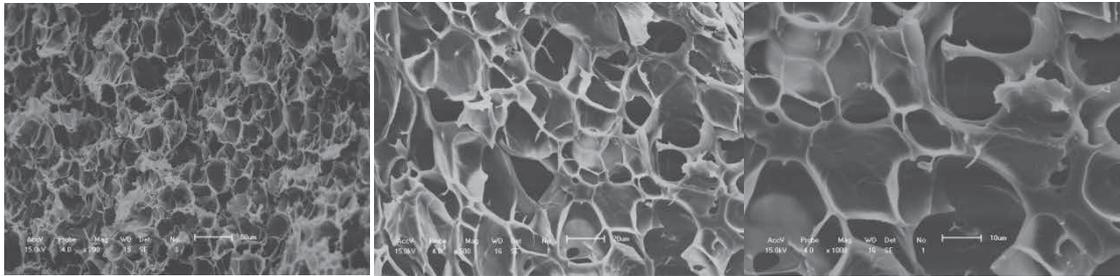


Figura 7 - Micrografias (MEV) hidrogel (GAm-DMAAm), com ampliação de 200X (a), 500X (b) e 1000X (c).

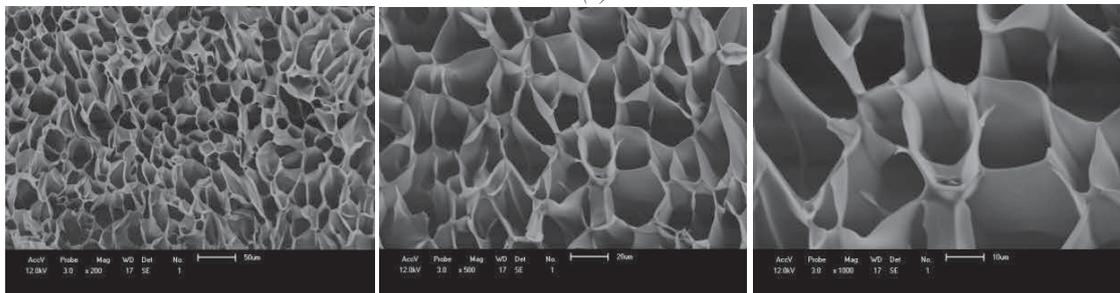


Figura 8 - Micrografias (MEV) hidrogel (GAm-DMAAm/DFK), com ampliação de 200X (a), 500X (b) e 1000X (c).

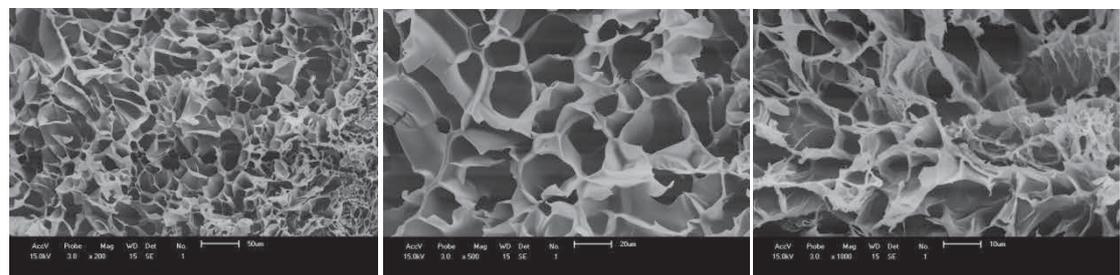


Figura 9 - Micrografias (MEV) hidrogel (GAm-DMAAm/VitB₁₂), com ampliação de 200X(a), 500X (b) e 1000X (c).

A semelhança morfológica dos hidrogéis GAm-DMAAm e GAm-DMAAm/VitB₁₂ sugere que a VitB₁₂ não interfere no processo de formação do hidrogel (reticulação). A contrário, os hidrogéis GAm-DMAAm/DFK apresentam estrutura mais ordenada e com dimensões de poros relativamente semelhantes, indicando que o DFK interfere no processo de reticulação.

4.4 DETERMINAÇÃO DO INTUMESCIMENTO (I_e) E DO EXPOENTE DIFUSIONAL (n)

O índice de intumescimento (I_e) é um parâmetro que relaciona a massa de fluido absorvida pelo hidrogel com a massa de hidrogel seco. Considera-se que o intumescimento tenha atingido o equilíbrio quando a variação da massa de hidrogel

intumescido em função do tempo for nula. A estimativa de I_e é importante, pois possibilita prever sobre a hidrofiliabilidade dos hidrogéis bem como auxilia na projeção de sistemas de liberação para atender a aplicações terapêuticas específicas (Reis *et al* 2007 b). Os valores de I_e , dos hidrogéis foram determinados utilizando a equação:

$$I_e = \frac{M_t - M_s}{M_s} \quad (10)$$

onde, M_t é a massa da amostra individual de hidrogel intumescido em um tempo t e M_s é a massa da mesma amostra individual de hidrogel seco. Neste trabalho, além de avaliar valor de I_e para uma determinada condição de pH, pode-se também avaliar como os valores de I_e do hidrogéis são influenciados pela variação de pH. Outro aspecto também avaliado foi como a presença de fármacos e influenciam nos valores de I_e .

Na Figura 10 são apresentados as curvas de I_e para hidrogéis de GAM-DMAAm. Pode-se observar que em meio alcalino o hidrogel apresenta maior I_e . Este efeito pode ser atribuído ao aumento de grupos ionizados (COO^-) do ácido glucorônico presentes na GAM em meio alcalino. Esses grupos negativamente carregados geram repulsões eletrostáticas entre os segmentos poliméricos e induzem a expansão da estrutura 3D do hidrogel (Guilherme *et al.*, 2006). Pode-se observar que em meio ácido não há diferenças significativas no valor de I_e . Porém, verifica-se que em meio ácido (pH 2) há um leve aumento do I_e , após um tempo de imersão próximo de 470 h, após o estágio de equilíbrio de intumescimento ter sido atingido. Isto pode ser atribuída a uma possível degradação das cadeias do hidrogel onde as cadeias começam a romper-se propiciando uma maior expansão da mesma havendo um acúmulo maior de água.

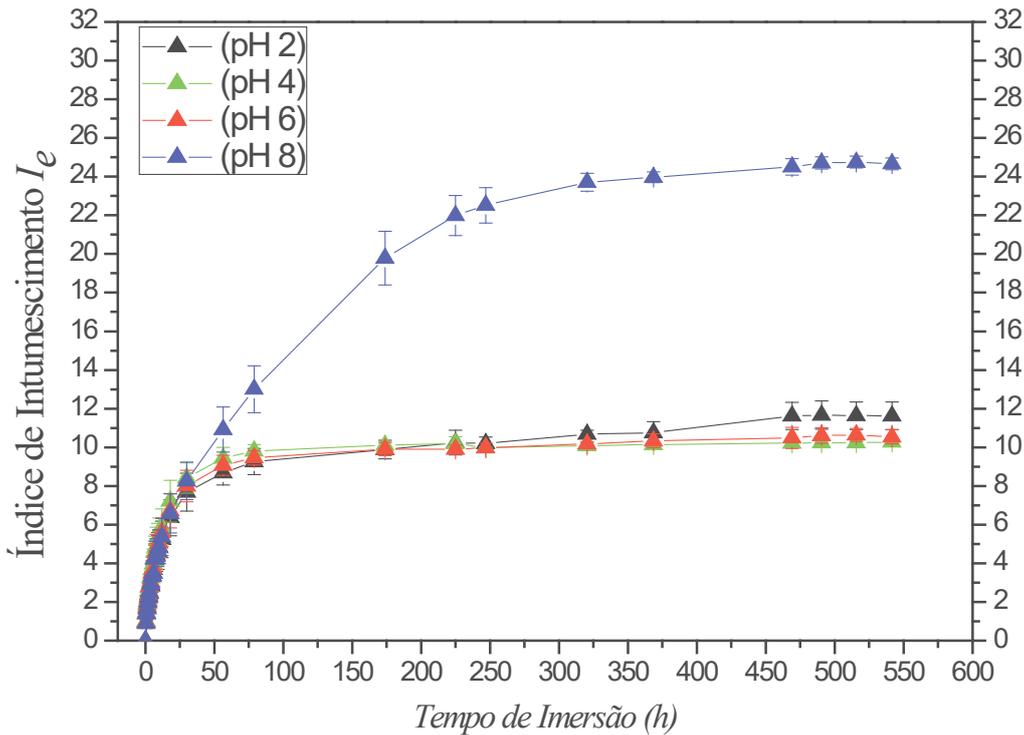


Figura 10: Intumescimento dos hidrogéis GAM-DMAAm (60-40) em função do tempo de imersão em soluções de diferentes pH.

Na Figura 11 são apresentados as curvas de I_e para hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ juntamente com a curva correspondente ao I_e do hidrogel GAM-DMAAm em pH 8. Observa-se uma maior distinção entre os perfis de intumescimento para os diferentes pH seguindo um aumento de I_e com um aumento de pH. Atribuiu-se este comportamento ao soluto presente no hidrogel, VitB₁₂, uma vez que a VitB₁₂ apresenta interações fracas de hidrogênio com a estrutura do hidrogel GAM-DMAAm. Assim, com o aumento de pH encontram-se quantidades menores de grupos protonados, COOH, responsáveis pelas interações da rede 3D com a VitB₁₂. Já os grupos ionizados COO⁻ presentes em maiores quantidades na estrutura do hidrogel nos pHs 6 e 8, são os responsáveis pela repulsão eletrostática que confere um maior intumescimento a matriz. Apesar de serem interações fracas entre soluto-matriz, a VitB₁₂ fica retida na matriz sendo gradualmente substituída por moléculas de água à medida em que o pH aumenta.

Em pH 8, nota-se uma diferença no perfil de intumescimento dos hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ em relação ao hidrogel de GAM-DMAAm. Atribuiu-se este comportamento ao fato de a matriz em pH 8 estar com seus grupos carboxílicos totalmente ionizados facilitando a difusão da VitB₁₂ pela estrutura tridimensional do hidrogel, ao mesmo tempo em que a difusão da VitB₁₂ pela rede 3D cria uma resistência hidrofóbica a entrada de água no interior da matriz retardando o intumescimento. Desta

forma podemos afirmar que a presença do soluto VitB₁₂ ocasiona uma cinética de intumescimento mais lenta do que o hidrogel GAM-DMAAm em pH 8.

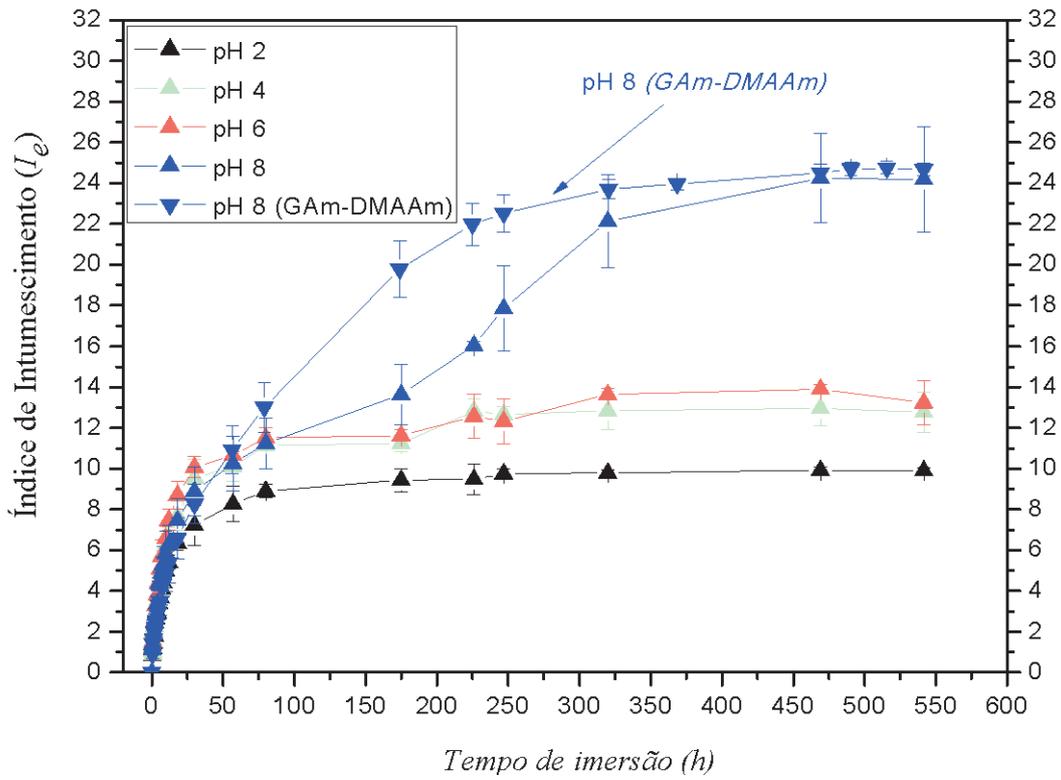


Figura 11: Intumescimento dos hidrogéis GAM-DMAAm (60/40) carregados com VitB₁₂ em função do tempo de imersão em soluções de diferentes pH.

Na Figura 12 são apresentados as curvas de I_e para hidrogéis de GAM-DMAAm carregados com DFK juntamente com a curva correspondente ao I_e do hidrogel GAM-DMAAm em pH 8. Pode-se observar um menor intumescimento para o hidrogel em meios ácidos. No entanto, em pH 6 o hidrogel intumescer menos que em pH 4. Atribuiu-se este comportamento ao soluto (DFK). Em pH 4 o DFK está na forma não-ionizada, já em pH 6 ele está predominantemente na forma ionizada, com a prevalência de grupos negativos (veja Fig 13). Os grupos carregados negativamente do DFK interagem com segmentos de acrilamida da GAM protonados, formando um retículo físico por interações eletrostáticas. Isto provoca o aumento da densidade de reticulação dos hidrogéis conduzindo a menor expansão da rede 3D e, conseqüentemente, um menor intumescimento. Observou-se também que em pH 8 há um maior intumescimento quando comparado com o hidrogel GAM-DMAAm em mesmo pH. Atribuiu-se este comportamento, novamente, ao soluto DFK. Em pH 8 o DFK está na forma ionizada, juntamente com grupos ionizados (COO^-) do ácido glucorônico presente na GAM. Desta forma, a presença destes dois grupos carregados negativamente promovem uma

repulsão eletrostática entre as cadeias poliméricas que formam o hidrogel, conseqüentemente um maior afastamento das cadeias permite a entrada de maior quantidade de moléculas de água ocasionando um maior intumescimento. Pode-se visualizar também que a presença dos grupos carregados ocasionou uma cinética de intumescimento diferente do hidrogel GAM-DMAAm, ou seja, o hidrogel GAM-DMAAm/DFK intumesciu de forma mais rápida até atingir o seu equilíbrio de intumescimento.

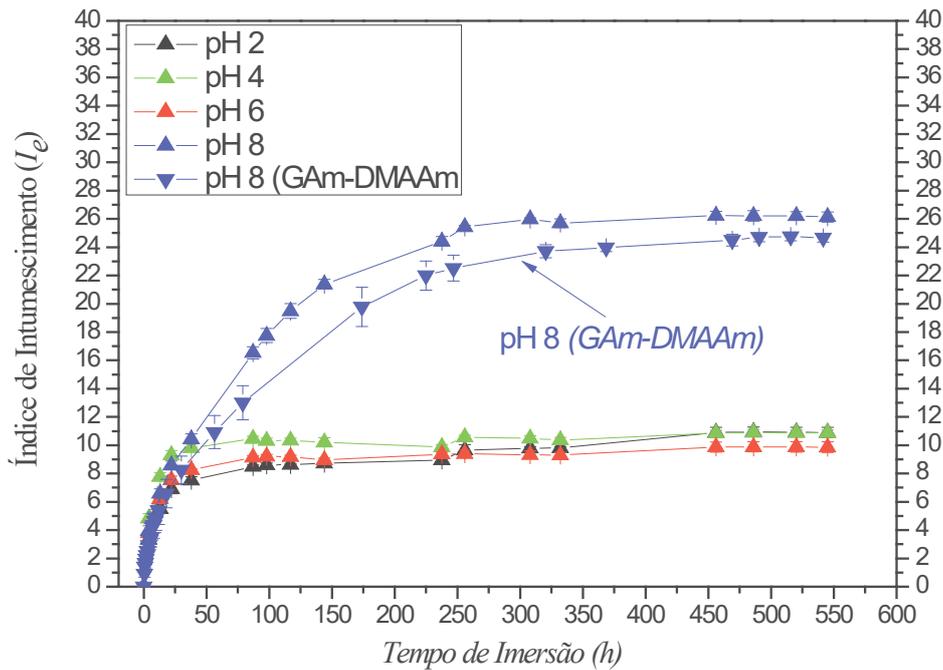


Figura 12: Intumescimento dos hidrogéis GAM-DMAAm (60/40) carregados com DFK em função do tempo de imersão em soluções de diferentes pH.

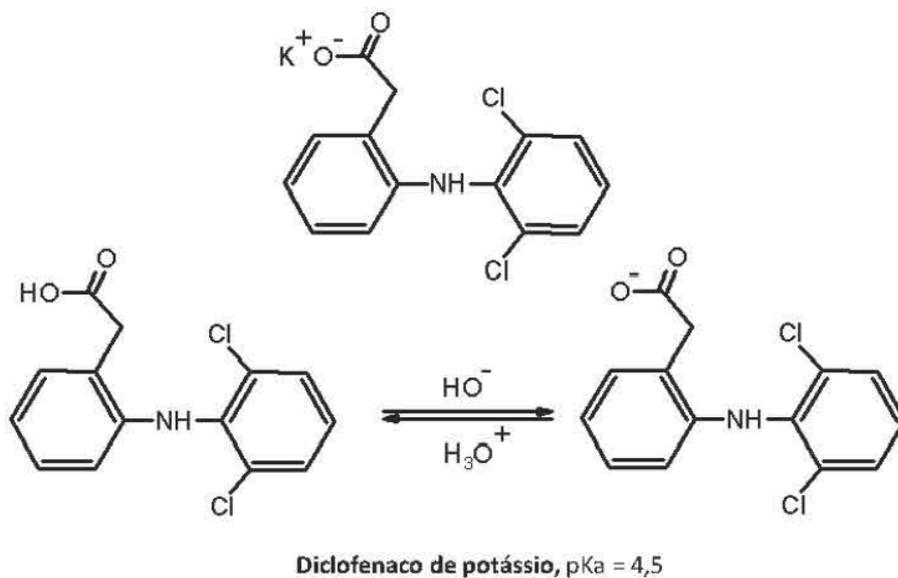


Figura 13: Esquema da estrutura química do DFK, conforme REIS, A. V. (2007b).

Neste trabalho, a determinação do índice de intumescimento serviu também como outro indício que a GA foi quimicamente modificada. A GAm se reticula formando o hidrogel, i. e., a obtenção da rede 3D e o respectivo intumescimento. No entanto, a GA (não modificada) não se reticula quando são empregadas as mesmas condições utilizadas para a reticulação da GAm.

A Tabela 2 apresenta os valores do I_e obtidos para os diferentes hidrogéis imersos em diferentes pH.

Tabela 2: Valores encontrados do parâmetro índice de intumescimento (I_e) para os diferentes hidrogéis intumescidos em diferentes pH.

Hidrogel	pH 2	pH 4	pH 6	pH 8
GAm/DMAAm	11,63	10,28	10,54	24,66
GAm/DMAAm/VitB₁₂	9,91	12,96	13,90	24,25
GAm/DMAAm/DFK	10,95	10,89	9,89	26,24

Outro aspecto avaliado foi o mecanismo de intumescimento que a matriz hidrofílica segue. Para isso determinou-se o valor do expoente difusional n que é um parâmetro associado ao mecanismo de captação de água no hidrogel (Zhang *et al.*, 2005). Para o cálculo do expoente difusional n dos hidrogéis (GAm-DMAAm, GAm-DMAAm/VitB₁₂, GAm-DMAAm/DFK), fez-se gráficos de $\ln Fi$ versus $\ln t$, baseado na equação 11 (Brazel and Peppas, 1999)

$$Fi = \frac{M_t - M_s}{M_{eq} - M_s} = kt^n \quad (11)$$

onde os termos M_t e M_s são os mesmos citados para a equação (10), M_{eq} é a massa da amostra individual do hidrogel intumescido no equilíbrio e k é uma constante de proporcionalidade dependente das características estruturais da rede polimérica que constitui o hidrogel. O termo Fi representa a fração de água absorvida pelo hidrogel em um tempo t . O coeficiente angular da curva de $\ln Fi$ versus $\ln t$, até 60% do processo de liberação, fornece o valor do expoente difusional n .

A Figura 14 mostra a curva referente ao hidrogel de GAm-DMAAm, imerso em pH 6, sem o carregamento dos solutos, usando a mesma metodologia, foram determinados os valores de n do mesmo hidrogel para os demais pHs e repetidos os cálculos para hidrogéis carregados com os solutos VitB₁₂ e DFK.

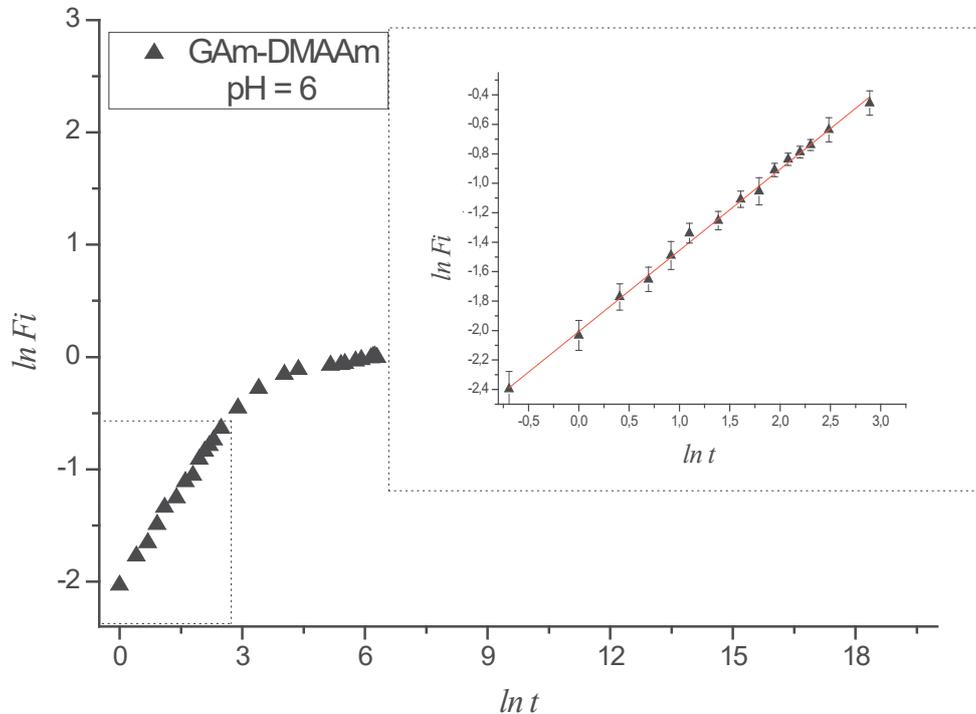


Figura 14: Dependência de $\ln F_i$ em função de $\ln t$ para determinação do expoente n .

Na Tabela 3 são apresentados todos os resultados obtidos aplicando a equação 11 para os hidrogéis GAm-DMAAm, GAm-DMAAm/VitB₁₂, GAm-DMAAm/DFK. Foi observado que todos os valores do parâmetro n estão entre $0,45 < n < 0,85$. Isto indica que para todos os hidrogéis sintetizados neste trabalho o mecanismo de absorção/liberação de água é caracterizado como anômalo no intervalo de pH estudado. Enfatiza-se que o hidrogel sintetizado foi de forma cilíndrica.

Tabela 3: Valores encontrados do parâmetro n dos hidrogeis *GAm-DMAAm*, *GAm-DMAAm/VitB₁₂*, *GAm-DMAAm/DFK*, em função do pH.

Hidrogel	pH 2	pH 4	pH 6	pH 8
GAm/DMAAm	0,54 $R^2=0,9971$	0,55 $R^2=0,9986$	0,55 $R^2=0,9974$	0,56 $R^2=0,9976$
GAm/DMAAm/VitB₁₂	0,54 $R^2=0,9844$	0,58 $R^2=0,9960$	0,58 $R^2=0,9930$	0,55 $R^2=0,9971$
GAm/DMAAm/DFK	0,56 $R^2=0,9928$	0,60 $R^2=0,9923$	0,60 $R^2=0,9922$	0,57 $R^2=0,9962$

4.5 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE VITAMINA B₁₂

As concentrações de fármacos no fluido de liberação foram determinadas correlacionando os valores de absorvância (*abs*) medidos com a respectiva curva analítica mostrada na Figura 15 para VitB₁₂. Os valores de fração de soluto liberado, F_L , para VitB₁₂, foram calculados baseando-se na quantidade de soluto liberado, obtida de concentração de cada de alíquota analisada, e da quantidade de soluto carregado na amostra do hidrogel. Assim, o perfil de liberação (F_L versus tempo) foi obtido para cada experimento. O valor de F_{max} é o valor que F_L assume em condições de equilíbrio. Na sequência, o valor de α foi obtido aplicando-se a equação (2). Da inclinação das curva obtida ao plotar os termos do lado esquerdo da equação (3) como função do tempo de liberação obtém-se, a constante de velocidade de liberação, k_L , de primeira ordem. A partir da equação (4) e dos respectivos valores de F_{max} e k_L foram calculados os valores de fração liberada previstos pelo modelo, F_{Lcalc} , para cada tempo t .

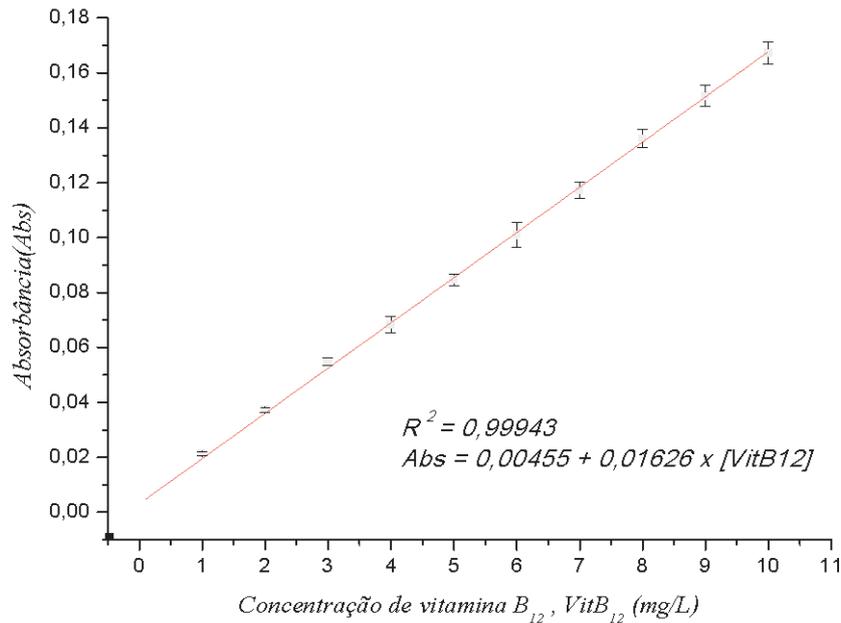


Figura 15: Curva analítica de Abs versus concentração de VitB₁₂, mg/L, em fluido de liberação (solução tampão pH 6, $\mu = 0,1$ mol/L).

Na Figura 16 são apresentadas as dependências dos dados de F_L quando tratados segundo a equação (3), Figura 16A, e segundo a equação (5), Figura 16B, com o tempo de liberação de VitB₁₂ a partir do hidrogel GAM-DMAAm/VitB₁₂ em 250 mL de fluido externo e temperatura de 25°C.

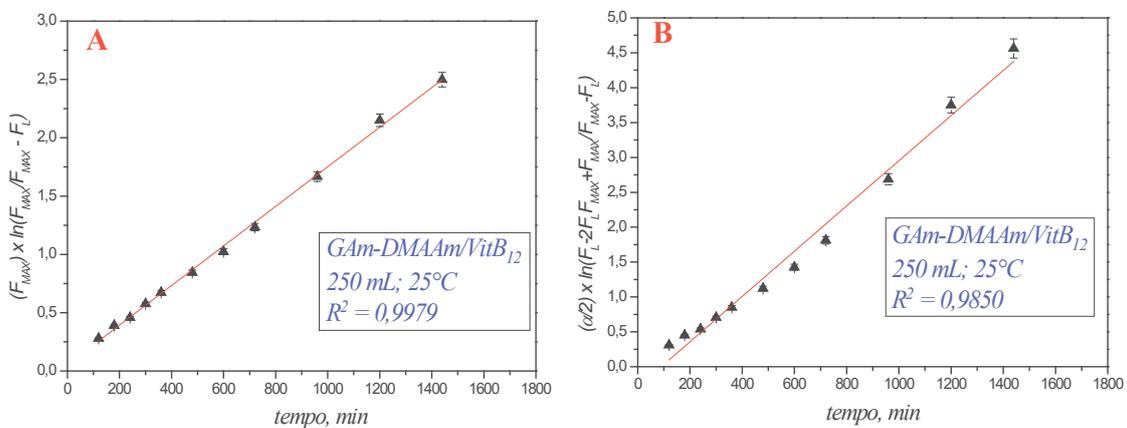


Figura 16: Termos do lado esquerdo das equações (3) e (5) em função do tempo de liberação de VitB₁₂ a partir dos hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ imerso em 250 mL de fluido de intumescimento, a 25 °C. (A) equação 3; (B) equação 5.

Os valores das constantes de liberação k_L para cinética de primeira e de segunda ordem foram obtidos, respectivamente, a partir das inclinações das retas apresentadas nas Fig. 16A e 16B. Repetiram-se os procedimentos matemáticos para obtenção dos valores de k_L para a liberação de VitB₁₂ de outras amostras desse hidrogel nos volumes de 350 e 450 mL à 25 °C e para os três volumes de fluidos (250, 350 e 450 mL) nas

temperaturas de 35 °C e 45 °C. Observa-se que os pontos da curva de cinética de primeira ordem (Fig. 16A) apresentam maior linearidade que a curva de cinética de segunda ordem (Fig. 16B). Em todos os casos, as curvas obtidas foram similares às apresentadas na Figura 16 e os coeficientes de determinação (R^2) são maiores quando os dados são tratados por meio de cinética de primeira ordem (Tabela 4).

Tabela 4: Valores de R^2 obtidos a partir das inclinações das retas de acordo com a equação 3 (cinética de liberação de primeira ordem) e equação 5 (cinética de liberação de segunda ordem), para o soluto VitB₁₂.

T \ V	Cinética primeira ordem			Cinética de segunda ordem		
	250 mL	350 mL	450 mL	250 mL	350 mL	450 mL
25°C	$R^2=0,9979$	$R^2=0,9969$	$R^2=0,9955$	$R^2=0,9850$	$R^2=0,9794$	$R^2=0,9886$
35°C	$R^2=0,9971$	$R^2=0,9991$	$R^2=0,9994$	$R^2=0,9847$	$R^2=0,9151$	$R^2=0,9889$
45°C	$R^2=0,9984$	$R^2=0,9989$	$R^2=0,9958$	$R^2=0,9892$	$R^2=0,9773$	$R^2=0,9603$

Na Figura 17 são mostrados os perfis de liberação a partir do hidrogel GAM-DMAAm/VitB₁₂ previstos pela equação 4 (Figura 17A), cinética de primeira ordem, e da equação 6 (Figura 17B), cinética de segunda ordem, ambos em comparação com o respectivo perfil de liberação experimental em 250 mL de fluido externo e temperatura de 25 °C.

Os perfis obtidos (F_{Lcalc} vs. tempo) em ambos os casos, equações 4 e 6, foi comparada com os respectivos perfis obtidos experimentalmente para a liberação de VitB₁₂. A partir da análise da Figura 17 pode-se inferir que os dados calculados segundo o modelo de primeira ordem possuem um ajuste mais adequado aos dados experimentais em relação ao modelo de segunda ordem. As avaliações das Figuras 16 e 17 juntamente com a Tabela 4 mostra que a liberação da VitB₁₂ pode ser descrita por um modelo de difusão/partição baseado em uma cinética reversível de primeira ordem. Assim, com base nesta observação, será aplicado o modelo cinético de primeira ordem para o tratamento da liberação de VitB₁₂.

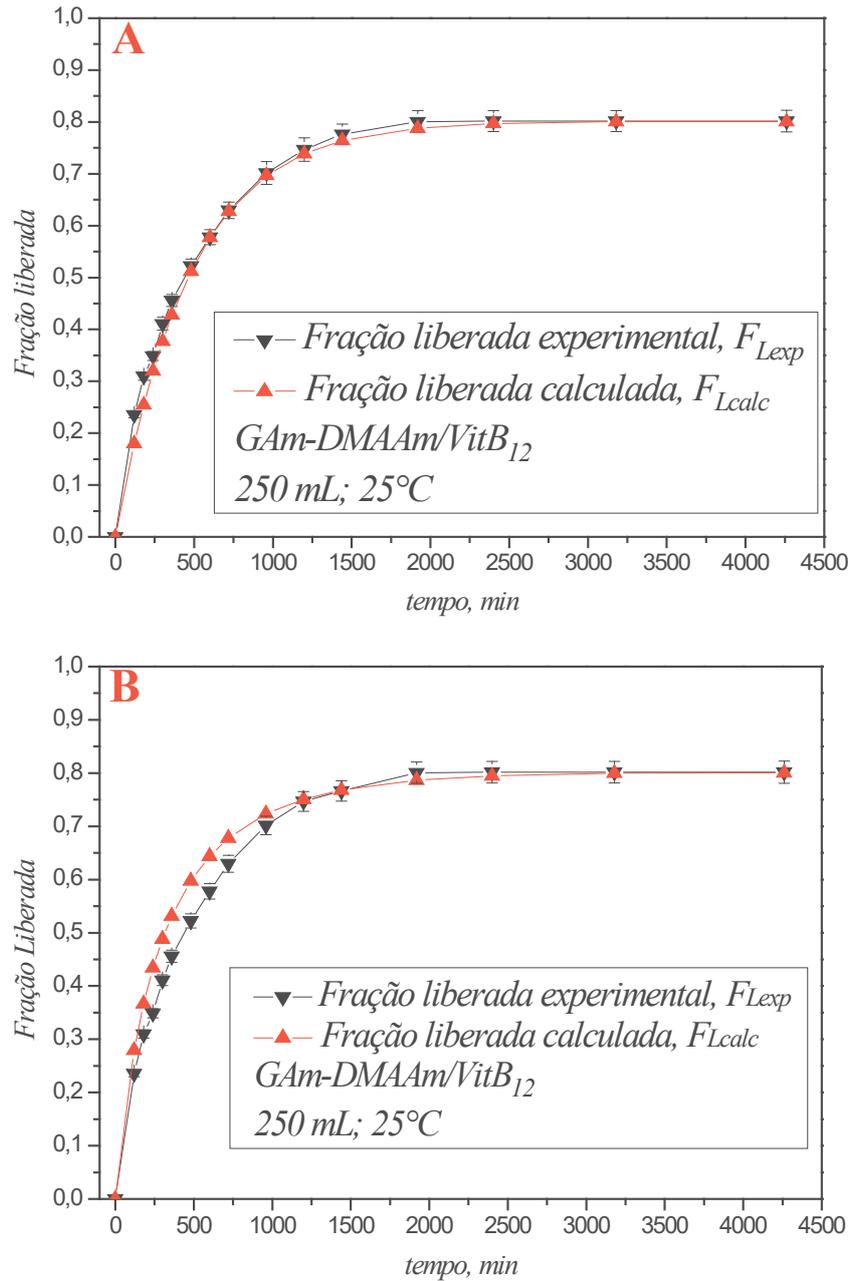


Figura 17: Perfis de liberação de VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAm-DMAAm/VitB₁₂ à 250 mL e 25°C, segundo uma liberação de primeira ordem (17A) e segundo uma liberação de segunda ordem (17B).

Na Figura 18 são apresentados os perfis de liberação previstos pelo modelo cinético de primeira ordem (F_{Lcalc} vs. tempo) comparados com os respectivos perfis obtidos experimentalmente (F_{Lexp} vs. tempo) para a liberação de VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAm-DMAAm/VitB₁₂ na temperatura de 25°C e volume de 350 mL (Figura 18A) e 450 mL (Figura 18B).

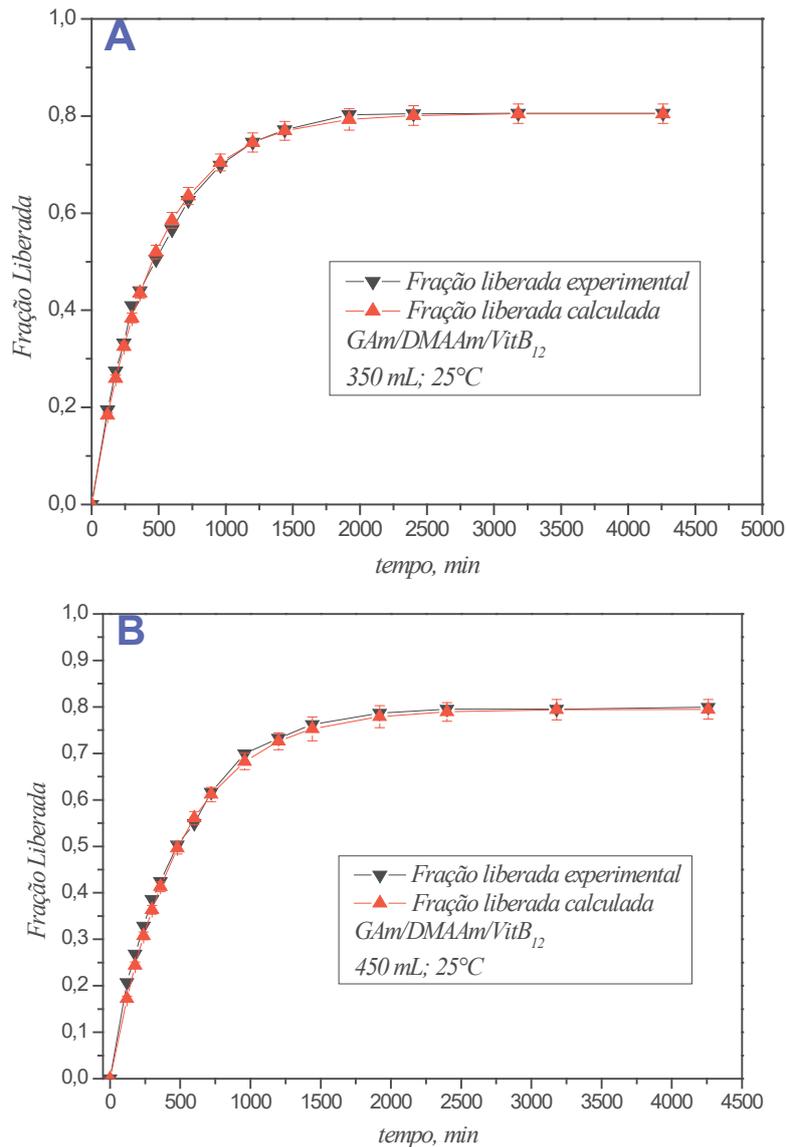


Figura 18: Perfis de liberação de VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAm-DMAAm/VitB₁₂ em diferentes volumes de fluido (A) 350mL e (B) 450mL.

As Figuras 19 e 20 também apresentam os perfis de liberações segundo modelo de primeira ordem dos ensaios realizados em temperaturas de 35°C (Figura 19) e na temperatura de 45°C (Figura 20) nos volumes de 250, 350 e 450 mL de fluido de liberação para cada temperatura.

Como observado nas curvas das Figuras 18, 19 e 20 o modelo de primeira ordem se ajusta adequadamente aos dados experimentais da liberação da VitB₁₂ em todo o perfil de liberação. Observa-se, em cada caso, um pequeno desvio do perfil calculado em relação ao experimental no início do processo de liberação. Este comportamento foi atribuído à porção do soluto contido na superfície do hidrogel que é liberada nos estágios iniciais. Portanto, essa pequena quantidade de soluto foi liberada sem a ocorrência do fenômeno de partição, base essencial do modelo matemático objeto de

investigação deste trabalho. Por isso, o desvio entre os valores de F_L experimental (F_{Lexp}) e o valor de F_L previstos pelo modelo (F_{Lcalc}) inicial nos tempos iniciais de liberação.

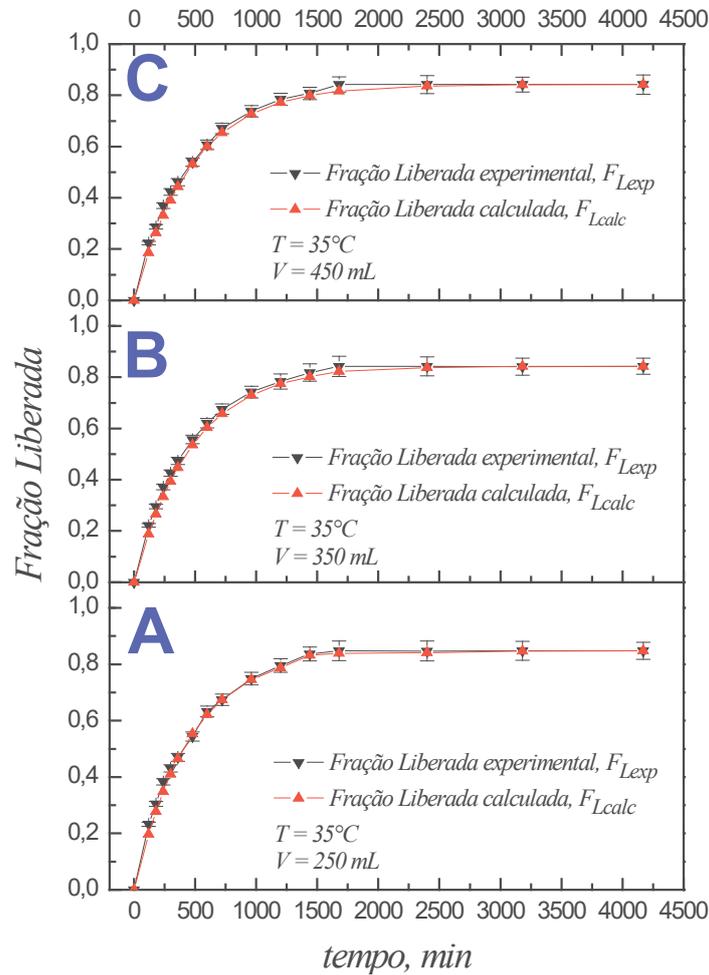


Figura 19: Perfis de liberação de VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ em diferentes volumes de fluido a: (A) 250mL, (B) 350mL e (C) 450 mL todos em temperatura de 35°C.

Nos ensaios de liberação *in-vitro* da VitB₁₂ utilizando-se o volume de fluido de 250 mL o valor de F_{max} foi atingido em 2253 min, 1680 min e 1319 min para as temperaturas de 25 °C, 35 °C e 45 °C, respectivamente. Isto mostra que em maiores temperaturas o equilíbrio é atingido em tempos menores. Resultados similares foram obtidos para a liberação de VitB₁₂ nos volumes de 350 e 450 mL. Dos dados de t_{eq} apresentados na Tabela 5 verifica-se que a uma determinada temperatura, os valores de t_{eq} obtidos para a liberação de VitB₁₂ nos diferentes volumes de fluido praticamente não diferem entre si. No entanto, há significativa diferença entre os valores de t_{eq} quando se varia a temperatura mantendo-se fixo o volume de fluido.

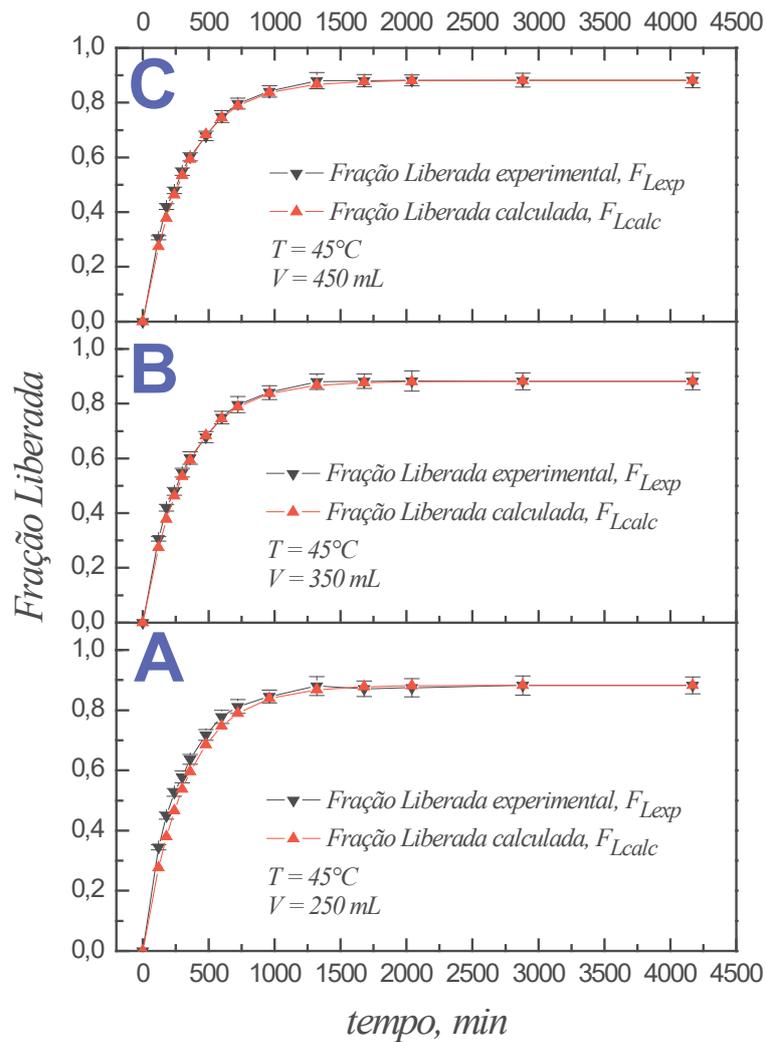


Figura 20: Perfis de liberação de VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/VitB₁₂ em diferentes volumes de fluido a: (A) 250mL, (B) 350mL e (C) 450 mL todos em temperatura de 45°C.

Na Tabela 5 são apresentados todos os dados experimentais colhidos nas condições de equilíbrio (F_{max} , α e t_{eq}) e os dados cinéticos (k_L , α/k_L e $t_{1/2}$) obtidos pela aplicação das equações 2, 3, 4 e 7 aos dados de liberação da VitB₁₂. Por meio da análise dos dados apresentados na Tabela 5 pode-se avaliar e comparar a intensidade dos efeitos dos diversos fatores que contribuem ou influenciam a constante de liberação, k_L , e a atividade de partição, α .

Tabela 5: Fração máxima liberada (F_{max}) obtida experimentalmente, atividade de partição (α) obtida por aplicação da eq. (2); e os parâmetros, k_L , t_{eq} , $t_{1/2}$, t_{eq} e a razão α/k_L obtidos quando é aplicado o modelo de cinética de primeira ordem para a liberação de VitB₁₂, nas diversas temperaturas e no três volumes de fluido externo.

T (°C)	25			35			45		
V (mL)	250	350	450	250	350	450	250	350	450
F_{max}	0,8016	0,8056	0,7951	0,8476	0,8428	0,8418	0,8823	0,8819	0,8823
α	4,040	4,144	3,880	5,562	5,361	5,321	7,496	7,467	7,496
k_L (10^{-3} min^{-1})	1,7	1,74	1,62	1,87	1,77	1,75	2,76	2,74	2,76
α/k_L (10^3 min)	2,376	2,381	2,395	2,974	3,029	3,04	2,716	2,725	2,716
t_{eq} (min)	2253	2248	2265	1680	1676	1682	1319	1331	1319
$t_{1/2}$ (min)	327	321	340	314	330	334	222	223	222

Pode-se verificar que a liberação é afetada pela temperatura, ou seja, a fração máxima liberada, F_{max} , é aumentada quando a temperatura de liberação é aumentada. Conseqüentemente, os parâmetros α e k_L aumentam com a temperatura no intervalo estudado. Isto pode ser entendido pela observação de que α depende de F_{max} , dada pela equação (2). Por sua vez, k_L depende de vários fatores, como citados anteriormente. Pode-se observar também que a razão α/k_L é praticamente constante na faixa de temperatura avaliada, não importando o volume de fluido no qual o gel está imerso no processo de liberação. Em adição a isto, verifica-se na Tabela 4 que a razão α/k_L varia significativamente com a variação da temperatura e com tendência diferente em relação às dependências dos fatores que definem essa razão com a temperatura. Isto é, tanto α quanto k_L aumentam com a temperatura, no entanto, a razão α/k_L tem um valor máximo, ca. de 3, em 35 °C e diminui a 45 °C ao passo que ambos α e k_L aumentam monotonicamente de 25 a 45 °C. Portanto, a hipótese inicial de que a razão α/k_L não depende do volume do fluido de intumescimento foi confirmada para o intervalo de temperatura e de volumes estudados, quando os dados de liberação para este sistema são tratados por meio das equações da cinética de liberação de primeira ordem.

4.6 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE DICLOFENADO DE POTÁSSIO

As concentrações do fármaco DFK no fluido de liberação e os correspondentes valores de F_L foram obtidos por metodologia similar à utilizada para o soluto VitB₁₂.

A Figura 21 mostra a curva analítica obtida para o soluto DFK, ao qual foi correlacionado os valores medidos de absorvância para obtenção da concentração do soluto em cada alíquota medida.

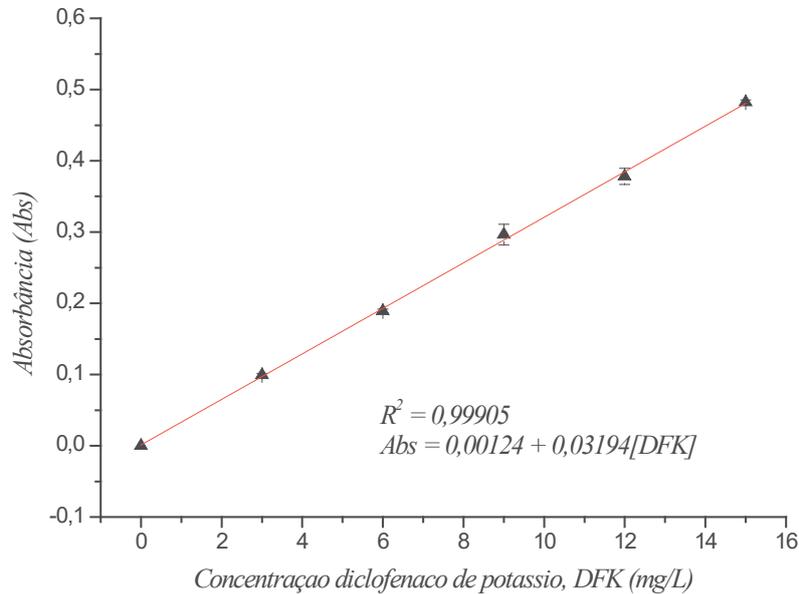


Figura 21: Curva analítica de Abs versus concentração de DFK, mg/L, em fluido de liberação (solução tampão pH 6, $\mu = 0,1$ mol/L).

Para os ensaios de liberação *in-vitro* de DFK a partir dos hidrogéis de GAM-DMAAm/DFK os valores de F_L foram obtidos aplicando as equações referentes a liberação de segunda ordem, ou seja, equação (5) para obtenção da constantes de velocidade k_L , equação (6) para obtenção dos valores de fração liberada previstos pelo modelo, F_{Lcalc} . Para obter F_{Lcalc} para a cinética de liberação de segunda ordem, necessitou também do respectivo valor de α , obtido pela equação (2). Assim, os valores de k_L foram obtidos para a liberação de DFK e as respectivas curvas obtidas após a aplicação das equações 5 e 6 aos dados experimentais são apresentadas na Figura 22, sendo que a Figura 22A é obtida quando os dados são tratados por meio da equação 3 (cinética de primeira ordem) e Figura 22B quando os dados são tratados por meio da equação 5 (cinética de segunda ordem).

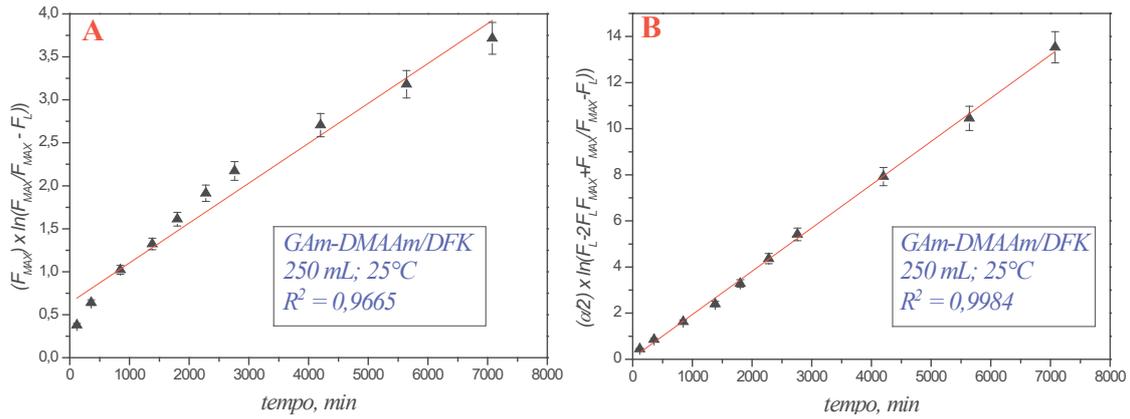


Figura 22: Termos do lado esquerdo das equações (3) e (5) em função do tempo de liberação de DFK a partir dos hidrogéis de GAm-DMAAm/DFK imerso em 250 mL de fluido de intumescimento, a 25 °C. (A) equação 3; (B) equação 5.

Em todos os valores de temperatura e volume estudados, as curvas obtidas foram similares às apresentadas na Figura 22 e o valor do coeficiente de determinação (R^2) é maior quando os dados são tratados por meio de cinética de segunda ordem (Tabela 6). Assim, ao contrário do observado para a liberação da VitB₁₂, para a liberação de DFK o modelo cinético de segunda ordem apresenta melhor ajuste aos dados experimentais.

Tabela 6: Valores de R^2 obtidos a partir das inclinações das retas de acordo com a equação 3 (cinética de liberação de primeira ordem) e equação 5 (cinética de liberação de segunda ordem), para o soluto DFK.

V T	Cinética primeira ordem			Cinética de segunda ordem		
	250 mL	350 mL	450 mL	250 mL	350 mL	450 mL
25°C	$R^2=0,9665$	$R^2=0,9606$	$R^2=0,9733$	$R^2=0,9979$	$R^2=0,9969$	$R^2=0,9955$
35°C	$R^2=0,9602$	$R^2=0,9619$	$R^2=0,9918$	$R^2=0,9954$	$R^2=0,9988$	$R^2=0,9967$
45°C	$R^2=0,8658$	$R^2=0,9121$	$R^2=0,9501$	$R^2=0,9983$	$R^2=0,9992$	$R^2=0,9902$

Na Figura 23 são mostrados o perfil de liberação a partir do hidrogel GAm-DMAAm/DFK previsto pela equação 4 (Figura 22A), cinética de primeira ordem, e da equação 6 (Figura 22B), cinética de segunda ordem em comparação com o respectivo perfil de liberação experimental em 250 mL de fluido externo e temperatura de 25°C. A análise dessa figura reforça a conclusão de que o soluto DFK segue uma cinética de liberação de segunda ordem. Desta forma, diferentemente do procedimento adotado para a liberação de VitB₁₂, para a liberação de DFK será aplicado o modelo cinético de segunda ordem.

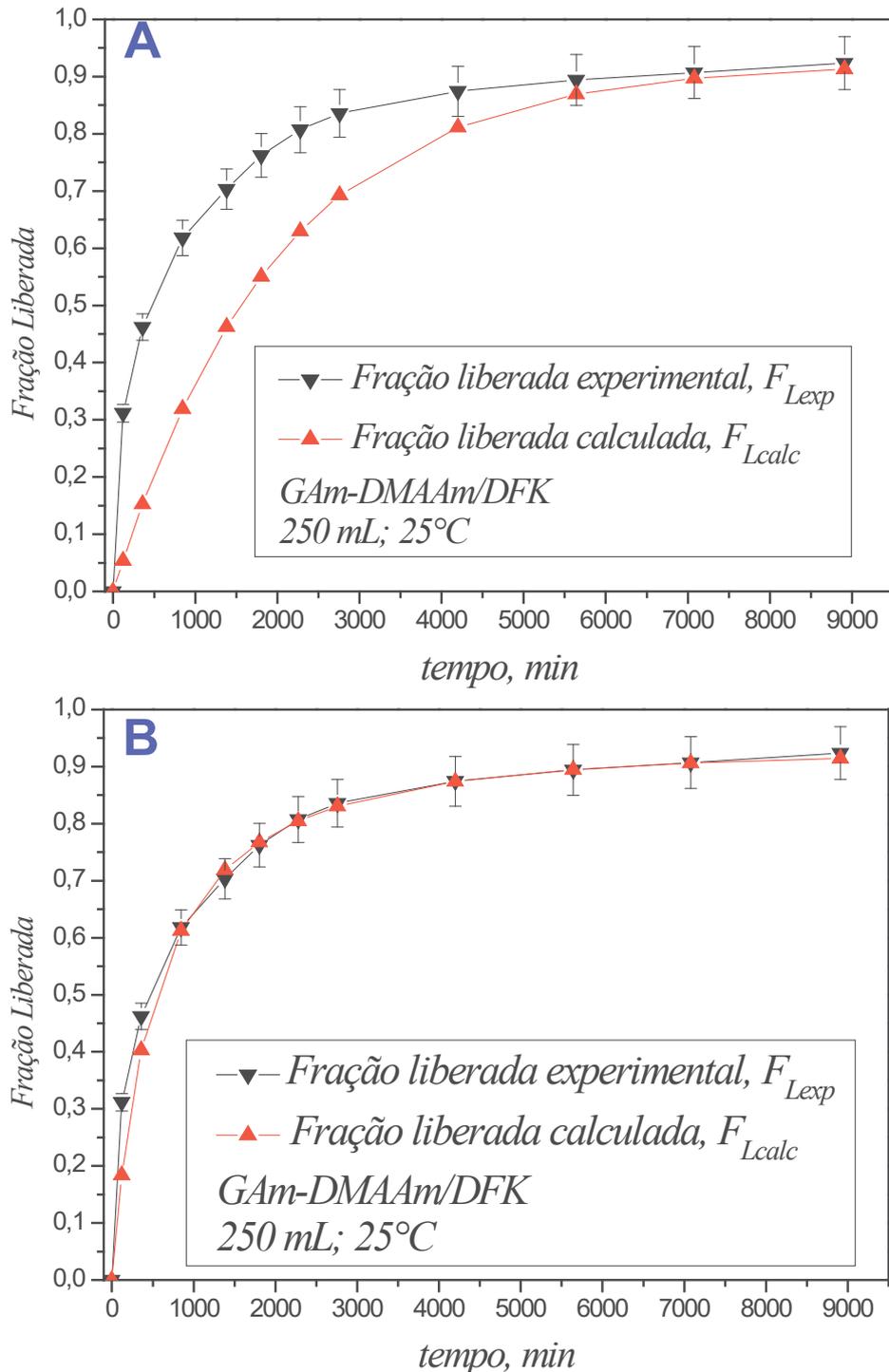


Figura 23: Perfis de liberação de DFK a partir de hidrogéis de Gam-DMAAm/DFK à 250 mL e 25°C, segundo uma liberação de primeira ordem (22A) e segundo uma liberação de segunda ordem (22B).

Repetiram-se os procedimentos matemáticos para obtenção dos valores de F_{max} e α para a liberação de DFK de outras amostras desse hidrogel, e plotou-se os perfis de liberação previstos pelo modelo cinético de segunda ordem (F_{Lcalc} vs. tempo) comparados com os respectivos perfis obtidos experimentalmente (F_{Lexp} vs. tempo) em 350 mL (Figura 24A) e 450 mL (Figura 24B) à 25 °C.

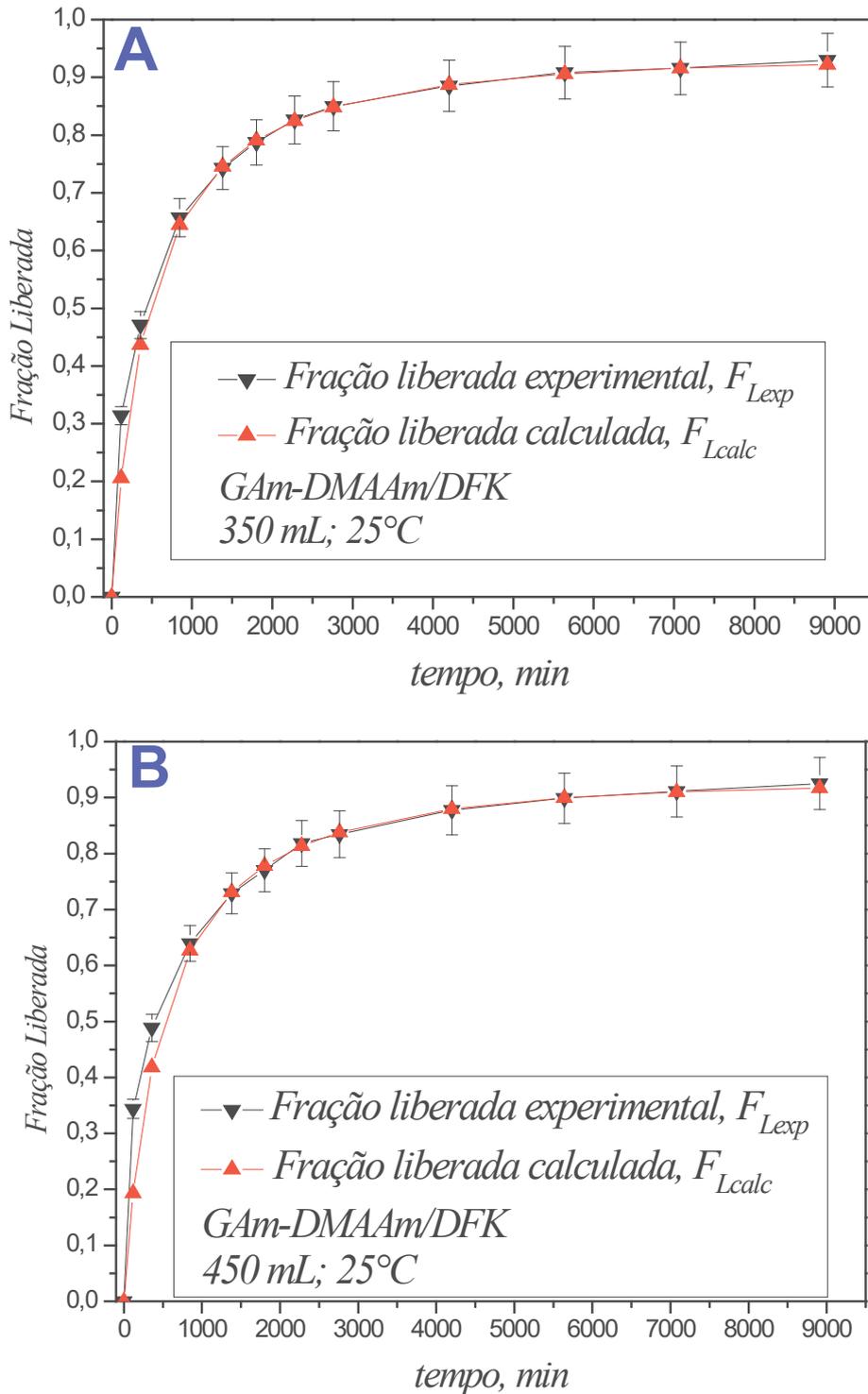


Figura 24: Perfis de liberação de DFK a partir de hidrogéis de *GAm-DMAAm/DFK* em diferentes volumes de fluido de liberação em (A) 350 mL e (B) 450 mL.

Novamente repetiram-se os procedimentos para as temperaturas de 35 °C e 45 °C e os três volumes envolvidos e as Figuras 25 e 26 nos mostram os perfis de liberação segundo o modelo de cinética de segunda ordem dos ensaios realizados a temperatura de 35 °C (Figura 25) e na temperatura de 45 °C (Figura 26).

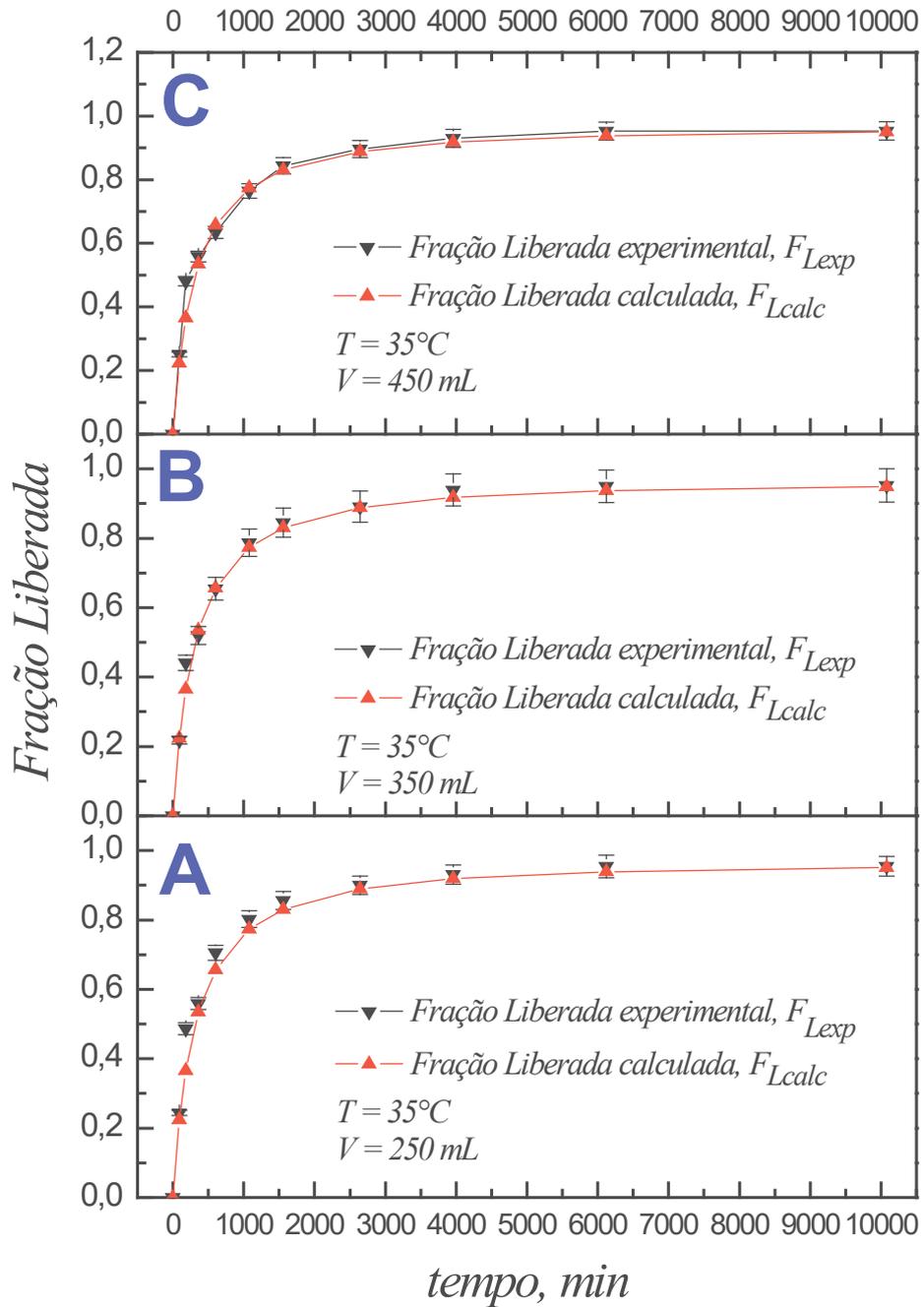


Figura 25: Perfis de liberação de DFK a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/DFK em diferentes volumes de fluido de liberação em (A) 250mL, (B) 350 mL e (C) 450 mL realizados na temperatura de 35°C .

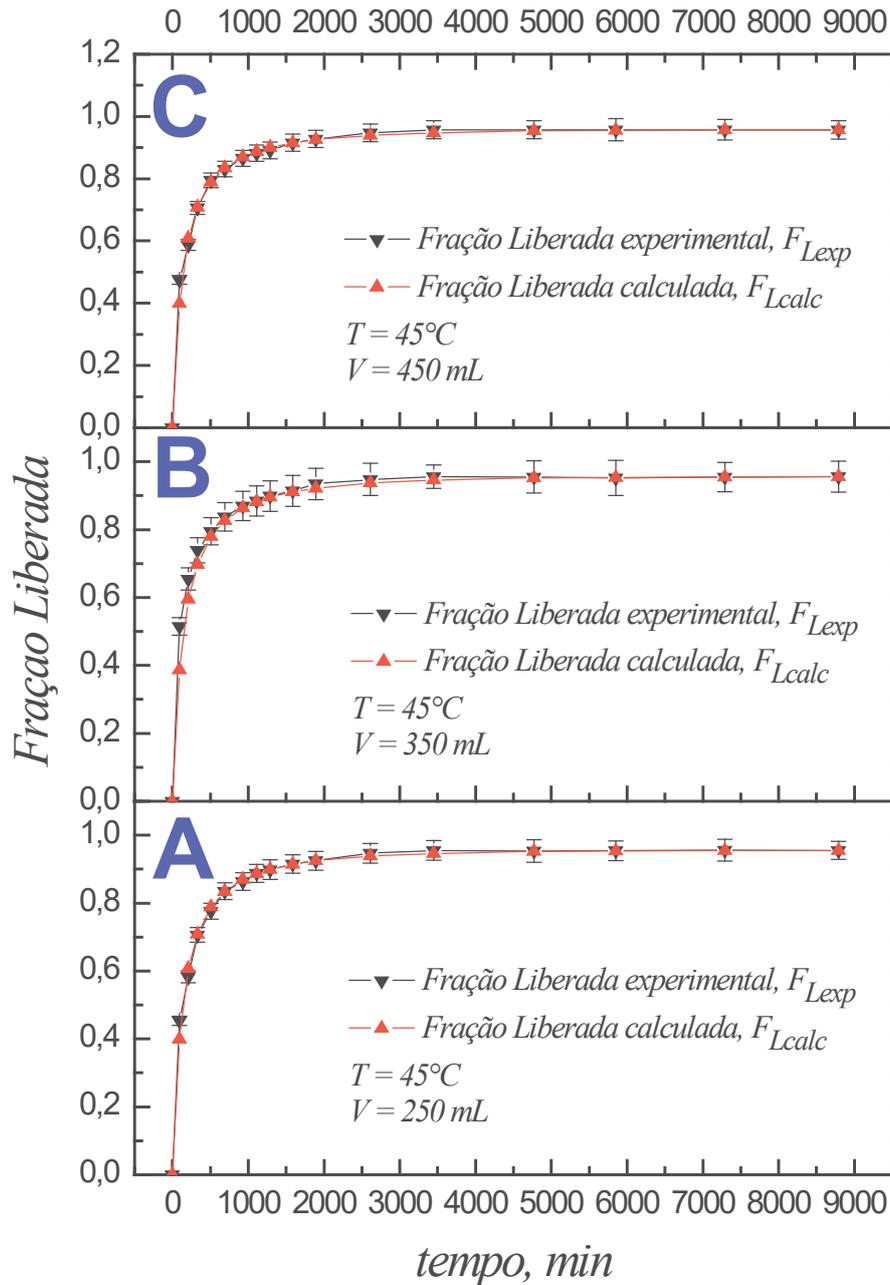


Figura 26: Perfis de liberação de DFK a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/DFK em diferentes volumes de fluido de liberação em (A) 250mL, (B) 350 mL e (C) 450 mL realizados na temperatura de 45°C .

Na Tabela 7 são apresentados todos os dados experimentais colhidos nas condições de equilíbrio (F_{max} , α e t_{eq}) e os dados cinéticos (k_L , α/k_L e $t_{1/2}$) obtidos pela aplicação das equações 2, 5, 6 e 8 aos dados de liberação de DFK. Novamente, após a análise da Tabela 7 verifica-se que a temperatura é também um fator importante para o processo de liberação de DFK a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/DFK.

Tabela 7: Fração máxima liberada (F_{max}) e a atividade de partição (α) obtidos experimentalmente e os parâmetros k_L , t_{eq} , $t_{1/2}$ e a razão α/k_L obtidos quando a liberação de DFK, nos diversos volumes de fluido de liberação e temperatura, e tratada por meio de cinética de segunda ordem.

T (°C)	25 °C			35 °C			45 °C		
V (mL)	250 mL	350 mL	450 mL	250 mL	350 mL	450 mL	250 mL	350 mL	450 mL
F_{max}	0,9236	0,9299	0,9252	0,9546	0,9524	0,9533	0,9563	0,9556	0,9571
α	12,089	13,265	12,369	21,025	19,99	20,424	21,89	21,55	22,35
k_L $10^{-3} (min^{-1})$	1,88	2,16	2,00	3,20	3,190	3,20	7,39	7,00	7,40
α/k_L $10^3 (min)$	6,430	6,141	6,184	6,570	6,267	6,382	2,963	3,079	3,021
$t_{eq} (min)$	8910	8910	8910	6076	6080	6080	3361	3348	3343
$t_{1/2} (min)$	457	403	431	286	285	285	124	131	124

A fração máxima liberada, F_{max} , é aumentada quando a temperatura de liberação é aumentada de 25 °C para 35 °C. Porém, um subsequente aumento na temperatura de 35 °C para de 45 °C não proporcionou variação significativa a F_{max} para a liberação de DFK a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm/DFK. Este comportamento também é verificado nos valores do parâmetro α , o que é esperado, pois segundo a equação (2), o parâmetro α depende unicamente da variável F_{max} . Seguindo um comportamento diferente, os valores de k_L aumentam em todo o intervalo de temperatura e apresentam um aumento mais acentuado quando a temperatura é aumentada de 35 para 45 °C. Este comportamento deve-se ao fato de que em 35 °C o sistema chegou ao seu máximo de liberação, ou seja, um aumento na temperatura não fornece energia suficiente para aumentar substancialmente a fração máxima liberada, F_{max} , mas aumenta a velocidade em que o soluto é liberado. Deste modo, pode-se inferir que quando o sistema atinge seu máximo de liberação (máximo em F_{max}), um acréscimo de temperatura deve exercer maior influência sobre o fenômeno de difusão (relacionado com o transporte no interior do hidrogel) do que sobre o fenômeno de partição (relacionado com as interações soluto-hidrogel e soluto-fluido de liberação).

Para melhor entender o efeito da temperatura nos valores de α , k_L e na razão α/k_L para a liberação de ambos os solutos liberados do hidrogel de GAM-DMAAm, foram feitos os gráficos de α vs. T e de k_L vs. T (Figura 27) e também de α/k_L versus T (Figura 27).

Uma análise da Figura 27 permite obter um grande conjunto informações, algumas delas já discutidas anteriormente. Primeiro, fica evidente que no intervalo estudado, a temperatura influencia mais nos valores de α e k_L para a liberação de DFK do que para a liberação de VitB₁₂. Embora a influência da temperatura no sistema GAm-DMAAm/DFK seja relativamente menor ao variar a temperatura de 35 para 45 °C quando comparado à variação de 25 para 35 °C, o efeito global da temperatura no sistema GAm-DMAAm/DFK é mais significativo do que no sistema GAm-DMAAm/VitB₁₂. Esta observação se aplica aos parâmetros α e k_L . Este fato, obviamente, terá influência na razão entre α e k_L . Enfatiza-se que os valores de α para o sistema GAm-DMAAm/DFK é de 3 a 5 vezes maiores do que os respectivos valores de α para o sistema GAm-DMAAm/VitB₁₂.

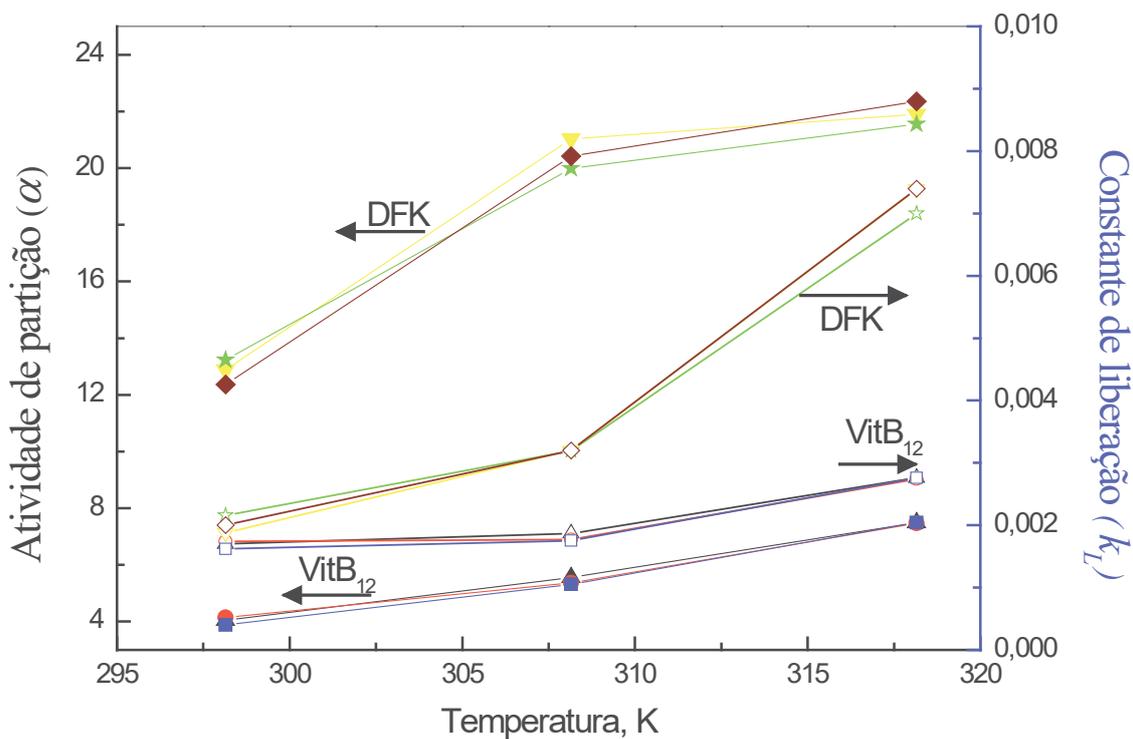


Figura 27: Dependência de α (caracteres preenchidos) e k_L (caracteres vazados) com a temperatura para a liberação de VitB₁₂ e de DFK a partir de hidrogéis de GAm-DMAAm.

Outra observação importante é que a 25 °C os valores de k_L para ambos sistemas são próximos, mas desviam-se à medida que a temperatura aumenta. Assim como ocorrem com os valores de α , os valores de k_L aumentam com a temperatura. Desta forma, fica evidente que o aumento na temperatura provoca um aumento maior em k_L para o sistema GAm-DMAAm/DFK quando comparado ao sistema GAm-DMAAm/VitB₁₂.

A Figura 28 mostra a dependência da razão α/k_L com a temperatura para ambos os sistemas estudados, nos diversos volumes. Pode ser observado que o valor da razão α/k_L praticamente não depende do volume do fluido utilizado para a liberação, principalmente para o sistema GAM-DMAAm/VitB₁₂ (este comportamento pode ser estatisticamente comprovado através da análise de um planejamento fatorial – vide apêndice I). A razão α/k_L depende da temperatura e, para ambos os sistemas, a dependência não é linear. Para o sistema GAM-DMAAm/DFK a variação dessa razão com a temperatura é bem maior. Mas, em ambos os sistemas estudados, a razão aumenta de 25 a 35 °C e depois decresce de 35 a 45 °C. O decréscimo da razão α/k_L para o sistema GAM-DMAAm/DFK é mais intenso. Para os dois sistemas estudados, a razão α/k_L possui valores próximos a 45 °C. Os diferentes decréscimos dos valores da razão α/k_L de 35 a 45 °C ocorrem em decorrência dos aumentos diferenciados nos valores de k_L , uma vez que um aumento na temperatura aumenta o valor da constante de liberação, k_L , mas provoca diminuição na razão α/k_L se α varia com a temperatura em menor intensidade. Foi inferido que, possivelmente, as interações específicas dos diferentes solutos com a matriz e com o fluido podem ser responsáveis pelos comportamentos distintos dos dois sistemas estudados.

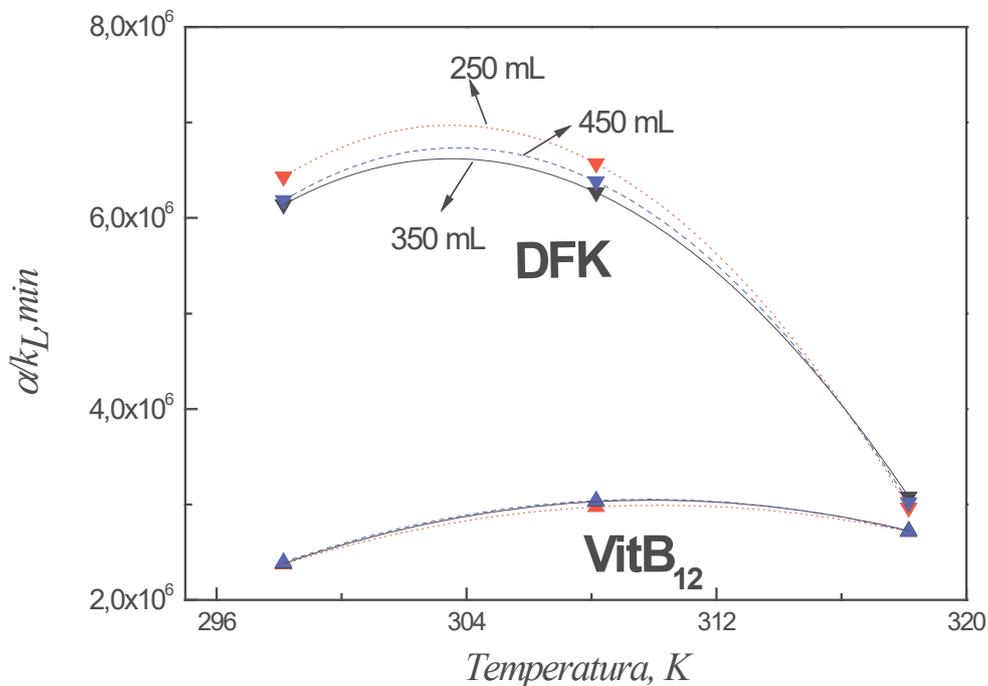


Figura 28: Curvas de α/k_L versus temperatura para a liberação de VitB₁₂ e de de DFK a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm, nos três volumes de fluidos estudados.

Para melhor investigar tal inferência, foram avaliadas as energias de ativação associadas aos processos de liberação dos dois solutos a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm, como descrito a seguir.

4.7 CÁLCULO DA ENERGIA DE ATIVAÇÃO

Para o cálculo da energia de ativação de liberação, Ea_L , de VitB₁₂ e de DFK a partir dos hidrogéis de GAM/DMAAm fez-se gráficos de $\ln k_L$ versus $1/T$, como mostrado na Figura 29, baseado na equação de Arrhenius,

$$k_L = A \cdot e^{-\frac{Ea_L}{RT}} \quad (12)$$

para os dois solutos mantendo-se fixo o volume de fluido. O coeficiente angular da curva de $\ln k_L$ versus $1/T$ fornece o valor de $-Ea_L/R$.

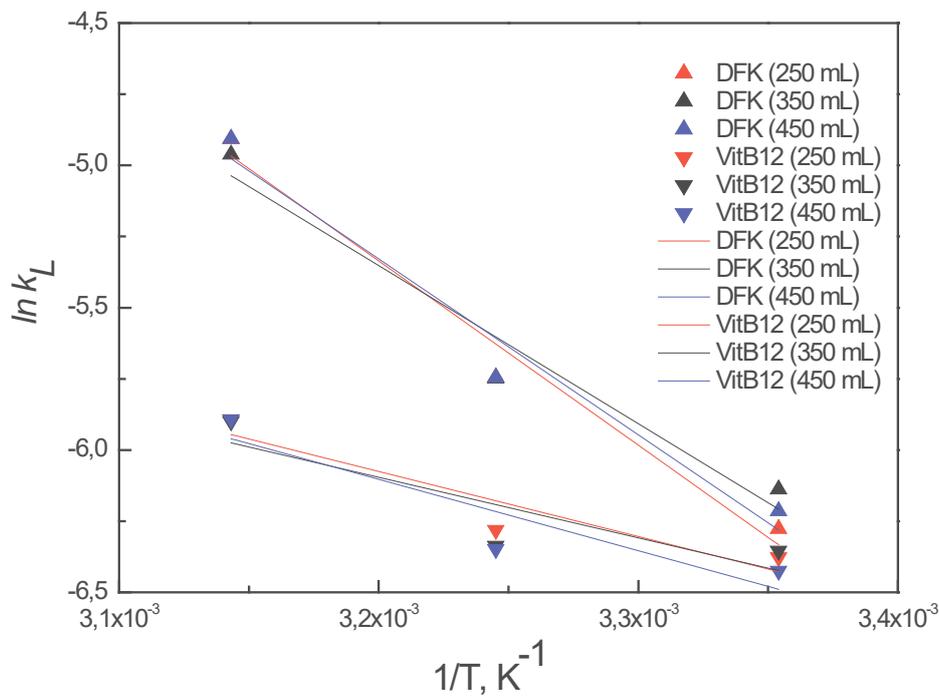


Figura 29: Dependência de $\ln k_L$ com $1/T$ para liberação de DFK e VitB₁₂ a partir de hidrogéis de GAM-DMAAm.

Observou que para a liberação da VitB₁₂ a curva de $\ln k_L$ versus $1/T$ apresentou uma menor inclinação se comparada à respectiva curva obtida para a liberação de DFK, não importando o volume de fluido. A partir dos coeficientes angulares destas curvas pode-se avaliar o valor de Ea_L para a liberação de VitB₁₂ e de DFK mantendo-se fixo o volume de fluido. Na Tabela 8 são apresentados os valores de Ea_L para a liberação de

cada soluto a partir de hidrogéis de GAM/DMAAm para os três volumes de fluídos estudados.

Tabela 8: Valores de energia de ativação para a liberação de VitB₁₂ e de DFK a partir de matriz de GAM-DMAAm, obtidos pela aplicação da equação de Arrhenius.

Soluto	VitB ₁₂			DFK			
	V	250 mL	350 mL	450 mL	250 mL	350 mL	450 mL
<i>Coefficiente angular (10³)</i>		-2,282 <i>R</i> ² =0,758	-2,131 <i>R</i> ² =0,525	-2,507 <i>R</i> ² =0,685	-6,474 <i>R</i> ² =0,957	-5,554 <i>R</i> ² =0,913	-6,184 <i>R</i> ² =0,936
<i>Ea_L (KJ/mol)</i>		18,98	17,72	20,84	53,83	46,18	51,42

Verifica-se que o valor de Ea_L para VitB₁₂ é cerca de três vezes menor que o respectivo valor de Ea_L para DFK. Esta diferença pode ser explicada se considerarmos as estruturas da VitB₁₂ e do DFK (Figura 2). Na estrutura da VitB₁₂ não há grupos que se ionizam em meio aquoso, como ocorre com o grupo carboxilato do DFK que possui pKa próximo de 4,5. A ausência de grupamento que possa ser ionizado na VitB₁₂ indica que há apenas interações fracas do soluto com o hidrogel. Assim, a VitB₁₂, aprisionada fisicamente à matriz polimérica intumescida, difunde através do gel por relaxamento das cadeias poliméricas. Na ausência de fortes interações com a matriz polimérica a liberação da VitB₁₂ ocorre devido à porosidade da matriz. Neste caso, os canais formados pelos poros da matriz seriam os caminhos preferenciais e a quantidade e tamanho de poros seriam os fatores mais importantes para a liberação de VitB₁₂. Quando o pH está acima de 4,5, os grupos carboxilatos do DFK estarão negativamente ionizados e interagem com segmentos da matriz GAM-DMAAm carregados positivamente (ênfatisa-se que as medidas de liberação foram realizadas em pH 6). Assim, no caso do DFK, a porosidade da matriz juntamente com as interações do soluto com a matriz são fatores importantes para a liberação deste soluto a partir de hidrogéis da GAM-DMAAm.

Outro fator também pode ser considerado para elucidar essa discussão são os valores de F_{max} obtidos para a liberação dos solutos a partir da matriz de GAM-DMAAm. Quando F_{max} é igual a 1,0 significa que todo o soluto que estava, inicialmente, dentro da matriz polimérica foi liberado para o fluído. Nestas condições, o

soluto teria afinidade pelo fluído e nenhuma afinidade pela matriz. No caso do soluto ter afinidade equivalente com as duas fases, metade da quantidade de soluto seria liberada ($F_{max} = 0,5$) e isso equivale a um valor de α igual a 1,0 (vide eq. 2). Para os dois solutos, os valores de F_{max} são maiores que 0,5 (o que origina $\alpha > 1,0$), e isto demonstra que ambos os solutos tem maior tendência a difundir em direção ao fluído externo do que na direção contrária, do fluído externo para a matriz. No caso do DFK, a tendência de difusão para o exterior da matriz é ainda maior e, num primeiro momento, isso contraria a discussão anterior na qual se considerou existência de interações eletrostáticas entre a matriz e o DFK para explicar o maior valor de Ea_L para este soluto. No entanto, outro aspecto que deve também ser considerado é o fato da molécula de DFK possuir volume muito menor que a de VitB₁₂, o que facilita a sua liberação se as interações com a matriz forem enfraquecidas. Assim, baseado na Tabelas 5 e 7 cerca de 92% do DFK é liberado ($F_{max} = 0,92$), a 25 °C, ao passo que nesta mesma temperatura ca. de 80% de VitB₁₂ é liberado ($F_{max} = 0,8$). Deve ser enfatizado que as quantidades de cada um dos solutos carregados na matriz são muito próximas (105,5 mg de VitB₁₂ e 116,5 mg de DFK). Desta forma, a 25 °C maior quantidade de DFK é liberada, comparada com a VitB₁₂, mesmo em que pese o fato de DFK possuir interações com a matriz. Isso se deve, portanto, ao menor volume da molécula de DFK em relação ao volume da VitB₁₂.

O efeito da interação do soluto com a matriz no processo de liberação pode ser avaliado, de forma qualitativa, pela variação do valor de α com a temperatura. Um aumento na temperatura de 25 para 45 °C provoca um acréscimo em α , passando de ca. de 4 para 7,5 para VitB₁₂ enquanto que para o DFK, para a mesma variação na temperatura, o acréscimo em α é bem maior, passando de ca. de 12,5 para 22,5. Assim, o fator temperatura é mais importante para aumentar o valor de α (que é definido pelo valor de F_{max}). Essa diferença foi atribuída às interações de DFK com a matriz de GAM-DMAAm serem mais fortes. Outro fator que corrobora com essas observações é o fato do DFK apresentar um tempo maior para atingir o equilíbrio na liberação da matriz de GAM-DMAAm se comparado à VitB₁₂. Embora a quantidade máxima de DFK liberada, a 25 °C, seja maior ($F_{max} = 0,92$) que a VitB₁₂ ($F_{max} = 0,80$) o tempo necessário para atingir o equilíbrio, t_{eq} , é bem maior para o DFK (ca. de 8.900 min) se comparado com a VitB₁₂ (ca. de 2.250 min). Como esperado, os valores de t_{eq} para a liberação de VitB₁₂ e de DFK diminuem com o aumento da temperatura. Mas a diminuição é maior para o DFK do que para VitB₁₂. Para a VitB₁₂ o valor de t_{eq} a 45 °C representa 58% do valor

deste parâmetro a 25 °C, ao passo que para DFK o valor de t_{eq} a 45 °C representa 37% do valor deste parâmetro a 25 °C. Com o enfraquecimento das interações DFK/matriz do hidrogel devido ao aumento da temperatura, a difusão deste soluto para o fluido externo passa a ser mais dependente do relaxamento das cadeias e da porosidade da matriz. Assim o aumento na temperatura, evidentemente, intensifica mais a liberação de DFK do que de VitB₁₂. A mesma discussão poderia ser feita com base na dependência de $t_{1/2}$ dos dois solutos da matriz de GAm-DMAAm com a temperatura.

O rompimento ou enfraquecimento de interações eletrostáticas é um fenômeno térmico (*Atkins, P.W., 2003*). Desta forma, considerando-se a liberação do soluto da matriz de GAm-DMAAm a Ea_L para o DFK deve ser maior que para a VitB₁₂. Os valores de Ea_L mostradas na Tabela 8 são condizentes com valores publicados na literatura (*Liu et al., 2004*).

5. CONCLUSÕES

A reação entre GA e GMA ocorreu, modificando quimicamente a GA, sendo comprovada pelas análises realizadas.

Os hidrogéis sintetizados são considerados inteligentes, pois respondem à um estímulo externo (pH). Possuem intumescimento maior quando imersos em meio básico.

Baseado no modelo de Peppas, o mecanismo pelo qual é absorvida a água pelo hidrogel e/ou o soluto é liberado da matriz 3D hidrogel foi classificado como anômalo.

O modelo de partição/difusão proposto por Reis e col., prevê com robustez, 100% do perfil de liberação da VitB₁₂ e do DFK a partir da matriz GAM-DMAAm. Ainda permite calcular vários parâmetros cinéticos, tais como a constante de velocidade (k_L) e o tempo de meia vida do processo de liberação, $t_{1/2}$.

Baseado no modelo de partição/difusão a VitB₁₂ segue cinética de liberação de primeira ordem e o DFK segue cinética de liberação de segunda ordem, para o sistema estudado.

A temperatura é um fator que altera de forma importante o valor da fração máxima liberada e, por consequência, os parâmetros atividade de partição (α) e constante de liberação (k_L).

A temperatura afeta com maior intensidade a liberação do DFK do que a liberação da VitB₁₂, devido às interações de grupos negativos do soluto (DFK) com grupos positivos presentes na matriz GAM-DMAAm.

A hipótese inicial foi comprovada e os valores da razão entre os parâmetros atividade de partição (α) e constante de liberação (k_L) se mostraram constantes nos diferentes volumes analisados.

Foi possível, através da dependência de k_L com a temperatura, calcular a energia de ativação ao qual se mostrou condizente com a literatura.

Por fim estes resultados apresentados mostram que este modelo poderá ser aplicado, com sucesso, em outros seguimentos onde ocorre a liberação controlada de solutos em geral através de hidrogéis.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguzzi, C.; Cerezo, P.; Salcedo, I.; Sánchez, R.; Viseras, C. Mathematical models describing drug release from biopolymeric delivery systems. **Materials Technology: Advanced Performance Materials**, v. 25, p. 205-211, 2010.

Amidon, G. L.; Lee, P. I.; Topp, E. M.; Dou, J. H. Transport Processes in Pharmaceutical Systems. **Transport and Polymer System**. New York: Marcel Dekker Inc., 2000, Cap. 12, p. 458-487.

Aouada, F.A.; Moura, M.R.; Fernandes, P.R.G.; Rubira, A.F.; Muniz, E.C. Optical and morphological characterization of polyacrylamide hydrogel and liquid crystal systems. **European Polymer Journal**, v. 41, p. 2134 – 2141, 2005.

Atkins, P.W. **Físico-Química**, LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A. 7ª edição, v. 1, 2 e 3, 2003

Azevedo, M. M. M. **Nanoesferas e a liberação controlada de Fármacos**, Monografia (Tópicos Especiais em Química Inorgânica IV - Introdução à Nanotecnologia: Um Enfoque Químico) - LQES - Laboratório de Química do Estado Sólido – Instituto de Química – UNICAMP, 2002.

Brazel, C. S.; Peppas, N. A. Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers. **Polymer**, v. 40, p. 3383-3398, 1999.

Cavalcanti, O. a.; Van Der Mooter, G.; Caramico-soares, I.; Kinget, R. Polysaccharides as excipients for colon-specific coatings. Permeability and swelling properties of casted films. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 28, p. 157-164, 2002.

Defaye, J.; Wong, E. Structural studies of gum-arabic, the exidate polysaccharide from *Acacia Senegal*. **Carbohydrate Research**, v. 150, p. 221-231, 1986.

Guilherme, M. R. Desenvolvimento de hidrogéis superabsorvente para uso eficiente em água, Programa de Pós-graduação em Química, Tese de Doutorado Universidade Estadual de Maringá, 125 p., 2006.

Gupta, R. B.; Cai, W. S.; Fast-responding bulk hydrogels with microstructure. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 83, p. 169-178, 2002.

Henrique, J. S.; Falcare, R. S. e Lopes, P. S. Sistema de liberação controlada, **Pharmacia Brasileira** v. 56, p. 22, 2006.

Hoffman, A. S. hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Review**, v. 54, p. 3-12, 2002.

Khare, A. R.; Peppas, N. A. Swelling/deswelling of anionic copolymer gels. **Biomaterials**, v. 16, p. 559-567, 1995.

Kim, S. W.; Bae, Y. H.; Okano, T. Hydrogel: Swelling, Drug Loading and Release, **Pharmaceutical Research**, v. 9, p. 283-290, 1992.

Kim, B.; Flamme, K. L.; Peppas, N. A. Dynamic swelling behavior of pH-sensitive anionic hydrogels used for protein delivery. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 89, p. 1606-1613, 2003.

Leung, A. Y.; Foster, S. **Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics**, 2ª Ed., New York: John Wiley & Sons, Inc. 1996, p. 204.

Lin, C. C.; Metters, A. T. Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling. **Advanced Drug Delivery Review**, v. 58, p. 1379-1408, 2006.

Liu, J.; Chen, L.; Li, L.; Hu, X.; Cai, Y. Steady-state fluorescence study on release of camptothecin from agar hydrogel. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 287, p.13–19, 2004.

Merck Index, 12ª edição, Whitehouse Station, 1996, p. 980.

Peppas, N. A.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikawa, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 27-46, 2000.

Narasimhan, B., Mathematical models describing polymer dissolution: consequences for drug delivery, **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 195-210, 2001.

Piai, J. F.; Moura, M. R.; Rubira, A. F.; Muniz, E. C. Kinetic study of Bovine Serum Albumin (BSA) released from alginate-Ca²⁺/PNIPAAm hydrogels. **Macromolecular Symposia**, v. 266, p.108-113, 2008.

Ranade, V. V.; Hollinger, M. A. **Drug delivery systems**. Ed. 2ª. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC, 2004. Cap 5, p 155-210.

Reis, A. V.; Cavalcanti, O. A.; Rubira, A. F.; Muniz, E. C. Synthesis and characterization of hydrogels formed from a glycidyl methacrylate derivative of galactomannan. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 267, p. 13-25, 2003.

Reis, A. V.; Guilherme, M. R.; Rubira, A. F.; Muniz, E. C. Synthesis and characterization of pH-responsive hydrogels based on chemically modified arabic gum polysaccharide. **Polymer**, v. 47, p. 2023-2029, 2006.

Reis, A.V., Guilherme, M.R., Rubira, A.F.; Muniz, E.C. Mathematical model for the prediction of the overall profile of in vitro solute release from polymer networks. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 310, p. 128-135, 2007(a).

Reis, A.V., Aplicações de goma arábica modificada no desenvolvimento de hidrogéis para uso como dispositivos para liberação modificada de fármacos, Programa de Pós-graduação em Química, **Tese de Doutorado Universidade Estadual de Maringá**, 145 p. 2007 (b).

Reis, A.V.; Fajardo, A.R.; Shuquel, I.T.A.; Guilherme, M.R.; Vidotti, G.J.; Rubira, A. F.; Muniz, E. C. Reaction of glycidyl methacrylate at the hydroxyl and carboxylic groups of poly(vinyl alcohol) and poly(acrylic acid): Is this reaction mechanism still unclear? **Journal of Organic Chemistry**, v.74, p. 3750-3757, 2009.

Ritger, P.L.; Peppas N. A. A simple equation for description of solute release. I – Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. **Journal of controlled Release**, v. 5, p. 23-36, 1987(a).

Ritger, P. L.; Peppas N. A. A simple equation for description of solute release. II – Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, p. 37-42, 1987(b).

Siepmann, J.; Peppas, N. A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 139-157, 2001.

Valente A. J. M.; Cruz S. M. A.; Morán M.C.; Murtinho D. B.; Muniz E. C.; Miguel M. G. Release of DNA from cryogel PVA-DNA membranes. **Express Polymer Letters**, v. 4, p. 480-487, 2010.

Valente A. J. M.; Ribeiro, A. C. F.; Rita, M. B. B. J.; Carvalho, R. A.; Estes, M. A.; Lobo, V. M. M. Transport properties of aqueous solutions of calcium lactate in the absence and presence of β -cyclodextrin. **Journal of Molecular Liquids**, v.161, p.125-131, 2011.

Van Dijk-Wolthius W. N. E.; Kettenes-Van Den Bosch J. J.; Van Der Kerk-Van H. A.; Hennink, W. E. Reaction of dextran with glycidyl methacrylate: An unexpected transesterification. **Macromolecules**, v. 30, p. 3411-3413, 1997.

Van Dijk-Wolthius W. N. E.; Franssen, O.; Talsma, H.; Van Steenbergen, M. J.; Kettenes-Van Den Bosch, J. J.; Hennink, W. E. Synthesis, Characterization, and Polymerization of Glycidyl Methacrylate Derivatized Dextran. **Macromolecules**, v. 28, p. 6317-6322, 1995.

Vervoort, L.; Van Der Mooter, G.; Augustijns, P.; Kinget, R. Inulin hydrogels. I. Dynamic and equilibrium swelling properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 172, p. 127 -135, 1998.

Zhang, Y. X.; Wu, F. P.; Li, M. Z.; Wang, E. J.; pH switching on-off semi-IPN hydrogel based on cross-linked poly(acrylamide-coacrylic acid) and linear polyallylamine, **Polymer**, v. 46, p. 7695-7700, 2005

APÊNDICE I – PLANEJAMENTO FATORIAL

Os tratamentos estatísticos tem se mostrado como ferramentas importantes em diferentes áreas da ciência, seja no planejamento, coleta, análise ou interpretação dos dados. Usando planejamentos experimentais baseados em princípios estatísticos, tais como planejamentos fatoriais, pode-se extrair de um sistema em estudo o máximo de informação útil.

Uma das informações mais exploradas com esta técnica é a avaliação de como k variáveis (fatores) influenciam a resposta y (variável dependente) de um sistema em estudo. Pode-se estudar o comportamento das respostas, em função dos fatores fixando-os em níveis, assim nos algoritmos usados para calcular os efeitos dos fatores sobre uma resposta os níveis dos fatores são codificados como -1 (nível inferior) e +1 (nível superior), desta forma um planejamento estatístico pode ser montado atribuindo valores para o nível inferior codificado como -1 e para o nível superior codificado como +1. Ainda, quando necessário, podem-se atribuir valores para níveis intermediários.

Com auxílio de programas computacionais estatísticos como Design-Expert®, Estatistic®, entre outros, pode-se calcular os valores dos efeitos associados aos fatores e assim quantificar os efeitos dos fatores a uma determinada resposta, e ainda, como esses efeitos interagem entre si.

Neste estudo realizou-se um planejamento composto central, 3^2 , ou seja, três níveis para dois fatores, realizando em triplicata o experimento correspondente ao composto central, codificado como (0, 0). Fixou os níveis do fator temperatura como 25°C (nível inferior, -1), 35°C (nível intermediário, 0) e 45°C (nível superior, +1) e para o fator volume os níveis foram fixados em 250mL (nível inferior, -1), 350mL (nível intermediário, 0) e 450mL (nível superior, +1). Utilizou-se do software Design-Expert®, para o tratamento dos dados obtidos.

Como objetivo principal deste planejamento, buscou-se avaliar a influência que a temperatura e o volume (fatores) exerce no termo α/k_L , (variável dependente), porém as respostas para outros termos como: k_L , α , F_L , t_{eq} e $t_{1/2}$ também foram obtidas e as mesmas colaboraram para discussão envolvida nesta dissertação. Foram obtidos respostas para a liberação dos dois solutos, vitamina B₁₂ e diclofenaco de potássio,

utilizando o mesmo modelo de planejamento. Nesta primeira parte os dados apresentados são para o soluto vitamina B₁₂.

A Tabela A1 mostra os níveis dos fatores codificados e as respostas α/k_L , α , k_L , F_L , t_{eq} e $t_{1/2}$ em cada ensaio utilizado para o soluto vitamina B₁₂:

Tabela A1: Fatores e níveis utilizados no planejamento composto central, 3². Associando os ensaios experimentais às suas respostas obtidos para o soluto vitamina B₁₂.

Ensaio	Fatores				Respostas			
	A	B	C	D	E	F	G	H
	T (°C)	Volume (mL)	α/k_L	α	$k_L (10^{-3}m)$	$t_{1/2} (min)$	$t_{eq} (min)$	F_{max}
1	-1 (25°C)	-1 (250 mL)	2380	4,04	1,70	327	2253	0,802
2	+1 (45°C)	-1 (250 mL)	2720	7,50	2,76	222	1319	0,882
3	-1 (25°C)	+1 (450 mL)	2400	3,88	1,62	340	2265	0,795
4	+1 (45°C)	+1 (450 mL)	2720	7,50	2,76	222	1319	0,882
5	-1 (25°C)	0 (350 mL)	2380	4,14	1,74	321	2248	0,806
6	+1 (45°C)	0 (350 mL)	2730	7,47	2,74	223	1331	0,882
7	0 (35°C)	-1 (250 mL)	2970	5,56	1,87	314	1680	0,848
8	0 (35°C)	+1 (450 mL)	3040	5,32	1,75	334	1682	0,842
9	0 (35°C)	0 (350 mL)	3028	5,36	1,77	330	1676	0,843
10	0 (35°C)	0 (350 mL)	3028	5,37	1,77	330	1676	0,843
11	0 (35°C)	0 (350 mL)	3022	5,35	1,77	330	1676	0,843

O tratamento destas informações pelo software Design-Expert® fornece-nos uma tabela de análise de variância, ANOVA. Através das informações contidas na ANOVA podemos avaliar se um determinado efeito é estatisticamente importante ou não. A Tabela A2 mostra a ANOVA da resposta α/k_L referente ao soluto vitamina B₁₂. Pode-se observar que apenas o efeito principal A (Temperatura) e o efeito de interação A² são estatisticamente significativos. Estes apresentaram valor P (teste F) menores que 0,05, significando que existe uma probabilidade menor que 5% de que a hipótese nula seja verdadeira. Relacionando os valores obtidos, verificamos que a contribuição do efeito temperatura é de 93,45%. Verifica-se também que o efeito principal B (Volume) e suas interações AB e B² não são estatisticamente significativos para a resposta α/k_L , pois o teste F possui valores P maiores que 0,05.

Tabela A2: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta α/k_L , para o soluto vitamina B_{12} .

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	7.554E5	5	1.511E5	461.75	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>1.700E5</i>	<i>1</i>	<i>1.700E5</i>	<i>519.66</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>1350.00</i>	<i>1</i>	<i>1350.00</i>	<i>4.13</i>	<i>0.0979</i>
<i>AB</i>	<i>100</i>	<i>1</i>	<i>100</i>	<i>0.31</i>	<i>0.6042</i>
<i>A²</i>	<i>5.359E5</i>	<i>1</i>	<i>5.359E5</i>	<i>1638.07</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B²</i>	<i>250.67</i>	<i>1</i>	<i>250.67</i>	<i>0.77</i>	<i>0.4215</i>
Resíduo	1635.86	5	327.17	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>1611.86</i>	<i>3</i>	<i>537.29</i>	<i>44.77</i>	<i>0.0219</i>
<i>Erro puro</i>	<i>24.00</i>	<i>2</i>	<i>12.00</i>	-	-
Total	7.570E5	10	-	-	-

As tabelas a seguir mostram as ANOVAS referente as demais respostas encontradas, dispostas respectivamente nesta ordem: *Tabela A3* para resposta k_L , *Tabela A4* para resposta α , *Tabela A5* para resposta F_L , *Tabela A6* para resposta t_{eq} e *Tabela A7* para resposta $t_{1/2}$.

Tabela A3: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta k_L , para o soluto vitamina B_{12} .

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	2.229E-6	5	4.457E-7	260.31	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>1.707E-6</i>	<i>1</i>	<i>1.707E-6</i>	<i>996.72</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>6.667E-9</i>	<i>1</i>	<i>6.667E-9</i>	<i>3.89</i>	<i>0.1055</i>
<i>AB</i>	<i>1.600E-9</i>	<i>1</i>	<i>1.600E-9</i>	<i>0.93</i>	<i>0.3781</i>
<i>A²</i>	<i>4.753E-7</i>	<i>1</i>	<i>4.753E-7</i>	<i>277,59</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B²</i>	<i>2.526E-11</i>	<i>1</i>	<i>2.526E-11</i>	<i>0.015</i>	<i>0.9081</i>
Resíduo	8.561E-9	5	1.712E-9	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>8.561E-9</i>	<i>3</i>	<i>2.854E-9</i>	-	-
<i>Erro puro</i>	<i>0.000</i>	<i>2</i>	<i>0.000</i>	-	-
Total	2.237E-65	10	-	-	-

A *Tabela A3* nos traz informações sobre a análise da variância da resposta k_L e, seguindo um comportamento semelhante à resposta α/k_L observa-se que somente o fator A (Temperatura) influencia estatisticamente a resposta k_L . Com uma influência na resposta k_L na ordem de 97,90% podemos afirmar que a constante de liberação, k_L é

mais dependente da temperatura do que a razão α/k_L . O efeito principal B (Volume) e suas interações AB e B² não são estatisticamente significativos para a resposta k_L , apresentando valores P para o teste F maiores que 0,05.

Tabela A4: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3², para a resposta α , para o soluto vitamina B₁₂.

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	18.45	5	3.69	477.99	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>18,06</i>	<i>1</i>	<i>18,06</i>	<i>2339.13</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>0.027</i>	<i>1</i>	<i>0.027</i>	<i>3.45</i>	<i>0.1222</i>
<i>AB</i>	<i>6.400E-3</i>	<i>1</i>	<i>6.400E-3</i>	<i>0.83</i>	<i>0.4044</i>
<i>A²</i>	<i>0.33</i>	<i>1</i>	<i>0.33</i>	<i>43.33</i>	<i>0.0012</i>
<i>B²</i>	<i>6.316E-6</i>	<i>1</i>	<i>6.316E-6</i>	<i>8.180E-4</i>	<i>0.9783</i>
Resíduo	0.039	5	7.721E-3	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>0.038</i>	<i>3</i>	<i>0.013</i>	<i>128.02</i>	-
<i>Erro puro</i>	<i>2.000E-4</i>	<i>2</i>	<i>1.000E-4</i>	-	-
Total	18.49	10	-	-	-

Na *Tabela A4* observa-se que apenas o efeito principal A (Temperatura) contribui de forma estatística para a resposta α . A interação do efeito principal temperatura, A², mesmo não contribuindo de forma efetiva, estatisticamente falando, para a resposta α , contribui para que a influência total do efeito temperatura seja de 99,67%. Deste modo percebe-se que a contribuição do efeito principal B (Volume) e suas interações não são estatisticamente significativas e é praticamente nula para a resposta α . Novamente aqui percebemos uma maior influência da temperatura para a resposta α , quando comparamos com a razão α/k_L .

Nas *Tabelas A5, A6 e A7* observamos o comportamento estatístico para as respostas F_L , t_{eq} e $t_{1/2}$, respectivamente.

Tabela A5: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta F_L , para o soluto vitamina B_{12} .

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	9.870E-3	2	3.69	555.56	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>9.841E-3</i>	<i>1</i>	<i>9.841E-3</i>	<i>1107.96</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>2.817E-5</i>	<i>1</i>	<i>2.817E-5</i>	<i>3.17</i>	<i>0.1128</i>
Resíduo	7.106E-5	8	8.883E-6	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>7.106E-5</i>	<i>6</i>	<i>1.184E-5</i>	<i>128.02</i>	-
<i>Erro puro</i>	<i>0.000</i>	<i>2</i>	<i>0.000</i>	-	-
Total	9.941E-3	10	-	-	-

Percebe-se um perfil semelhante envolvendo as respostas α (tabela A4), F_L e t_{eq} , onde o efeito principal A (Temperatura) exerce uma influência maior que 99,50% para as três respostas (99,67% para α , 99,71% para F_L e 99,78% para t_{eq}). Com isso podemos afirmar que para estas respostas o efeito principal B (Volume) e suas interações são estatisticamente não significativos e que a influência do efeito principal B (Volume) é praticamente nula. A ausência das interações entre os fatores para a resposta F_L (Tabela A5), deve-se ao fato de um modelo estatístico linear explicar mais adequadamente a influência dos fatores sobre esta resposta do que um modelo quadrático. Observa-se ainda que para α e F_L somente a temperatura é um fator significativo e suas interações (ex. A^2) são não significativas. Este comportamento estatístico semelhante poderia ser previsto dado a dependência de α com os valores de F_L (equação 2). Reforça-se aqui que o valor de F_{max} é numericamente igual ao valor de F_L ao atingir o valor máximo de liberação.

Tabela A6: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta t_{eq} , para o soluto vitamina B_{12} .

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	1.338E6	5	2.675E5	6662.54	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>1.304E6</i>	<i>1</i>	<i>1.304E6</i>	<i>32471.38</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>32.67</i>	<i>1</i>	<i>32.67</i>	<i>0.81</i>	<i>0.4084</i>
<i>AB</i>	<i>36.00</i>	<i>1</i>	<i>36.00</i>	<i>0.90</i>	<i>0.3872</i>
<i>A²</i>	<i>30991.59</i>	<i>1</i>	<i>30991.59</i>	<i>771,81</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B²</i>	<i>11.23</i>	<i>1</i>	<i>11.23</i>	<i>0.28</i>	<i>0.6196</i>
Resíduo	200.77	5	40.15	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>200.77</i>	<i>3</i>	<i>66.92</i>	-	-
<i>Erro puro</i>	<i>0.000</i>	<i>2</i>	<i>0.000</i>	-	-
Total	1.338E6	10	-	-	-

Visualiza-se ainda na *Tabela A7* o perfil estatístico da resposta t_{eq} onde mais uma vez a influência do fator temperatura é significativa, com 97,04% e reafirma que o efeito volume é estatisticamente não significativo.

Tabela A7: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta $t_{1/2}$, para o soluto vitamina B₁₂.

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	24705.85	5	4941.17	118.38	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>17173.50</i>	<i>1</i>	<i>17173.50</i>	<i>411.45</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>181.50</i>	<i>1</i>	<i>181.50</i>	<i>4.35</i>	<i>0.0914</i>
<i>AB</i>	<i>42.25</i>	<i>1</i>	<i>42.25</i>	<i>0.90</i>	<i>0.3605</i>
<i>A²</i>	<i>6801.69</i>	<i>1</i>	<i>6801.69</i>	<i>1,01</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B²</i>	<i>0.086</i>	<i>1</i>	<i>0.086</i>	<i>162.96</i>	<i>0.9656</i>
Resíduo	208.70	5	41.74	2.060E-3	-
<i>Falta de ajuste</i>	208.70	3	69.57	-	-
<i>Erro puro</i>	<i>0.000</i>	<i>2</i>	<i>0.000</i>	-	-
Total	24914.55	10	-	-	-

Visualiza-se ainda na *Tabela A7* o perfil estatístico da resposta t_{eq} onde mais uma vez a influência do fator temperatura é alto, com 97,04% e reafirma que o efeito volume é estatisticamente não significativo.

Com base nesses dados estatísticos podemos afirmar para todas as respostas avaliadas que a liberação da vitamina B₁₂, no sistema estudado, sofre forte influência da Temperatura sendo a variação de volume um fator que não influencia na liberação.

O sistema que envolve a liberação do diclofenaco de potássio também foi submetido ao mesmo tratamento estatístico aos moldes do planejamento composto central 3^2 , e os dados apresentados nesta segunda parte referem-se ao soluto diclofenaco de potássio.

A *Tabela A8* mostra os níveis dos fatores codificados e as respostas α/k_L , α , k_L , F_L , t_{eq} e $t_{1/2}$ em cada ensaio utilizado para o soluto diclofenaco de potássio.

Tabela A8: Fatores e níveis utilizados no planejamento composto central, 3². Associando os ensaios experimentais às suas respostas obtidos para o soluto diclofenaco de potássio.

Ensaio	Fatores		Respostas					
	A	B	C	D	E	F	G	H
	T (°C)	Volume (mL)	α/k_L	α	$k_L (10^{-3}m)$	$t_{1/2}$ (min)	t_{eq} (min)	F_{max}
1	-1 (25°C)	-1 (250 mL)	6430	12,09	1,88	457	8910	0,924
2	+1 (45°C)	-1 (250 mL)	2960	21,89	7,39	124	3361	0,956
3	-1 (25°C)	+1 (450 mL)	6180	12,37	2,00	431	8910	0,925
4	+1 (45°C)	+1 (450 mL)	3020	22,35	7,40	124	3343	0,957
5	-1 (25°C)	0 (350 mL)	6140	13,27	2,16	403	8910	0,930
6	+1 (45°C)	0 (350 mL)	3080	21,55	7,00	131	3348	0,956
7	0 (35°C)	-1 (250 mL)	6570	21,03	3,20	286	6076	0,955
8	0 (35°C)	+1 (450 mL)	6380	20,42	3,20	285	6080	0,953
9	0 (35°C)	0 (350 mL)	6631	21,22	3,20	285	6080	0,955
10	0 (35°C)	0 (350 mL)	6085	19,41	3,19	285	6080	0,951
11	0 (35°C)	0 (350 mL)	6085	19,41	3,19	285	6080	0,951

A Tabela A9 mostra a ANOVA da resposta α/k_L referente ao soluto diclofenaco de potássio. Observa-se que apenas o efeito principal A (Temperatura) e o efeito de interação A² são estatisticamente significativos. Estes apresentaram um valor P (teste F) menor que 0,05, o que significa que existe uma probabilidade menor que 5% de que a hipótese nula seja verdadeira. Relacionando os valores obtidos, verificou-se que a contribuição do efeito temperatura é de 98,39% indicando uma influência maior ainda quando comparado com o soluto vitamina B12 (93,45%). Verifica-se também que o efeito principal B (Volume) e suas interações AB e B² não são estatisticamente significativos para a resposta α/k_L , pois o teste F possui valores P maiores que 0,05.

As tabelas seguintes mostram as ANOVA referente às demais respostas encontradas, dispostas respectivamente nesta ordem: Tabela A10 para resposta k_L , Tabela A11 para resposta α , Tabela A12 para resposta F_L , Tabela A13 para resposta t_{eq} e Tabela A14 para resposta $t_{1/2}$.

A Tabela A10 nos traz informações sobre a análise da variância da resposta k_L para o soluto diclofenaco de potássio. Observa-se que somente o fator A (Temperatura) e sua interação A² influenciam estatisticamente a resposta k_L . Com uma influência na

resposta k_L na ordem de 98,90% . O efeito principal B (Volume) e suas interações AB e B^2 não são estatisticamente significativos para a resposta k_L , apresentando valores P para o teste F maiores que 0,05.

Tabela A9: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta α/k_L , para o soluto diclofenaco de potássio.

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	2.376E7	5	14.751E6	98.25	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>1.565E7</i>	<i>1</i>	<i>1.565E7</i>	<i>323.62</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>24066.67</i>	<i>1</i>	<i>24066.67</i>	<i>0.50</i>	<i>0.5120</i>
<i>AB</i>	<i>24025.00</i>	<i>1</i>	<i>24025.00</i>	<i>0.50</i>	<i>0.5124</i>
<i>A²</i>	<i>7.729E6</i>	<i>1</i>	<i>7.729E6</i>	<i>159.84</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B²</i>	<i>35431.64</i>	<i>1</i>	<i>35431.64</i>	<i>0.73</i>	<i>0.4311</i>
Resíduo	2.418E5	5	48357.50	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>43043.49</i>	<i>3</i>	<i>14347.83</i>	<i>0.14</i>	<i>0.9249</i>
<i>Erro puro</i>	<i>1.987E5</i>	<i>2</i>	<i>99372.00</i>	-	-
Total	2.400E7	10	-	-	-

Tabela A10: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta k_L , para o soluto diclofenaco de potássio.

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	4.703E-5	5	9.406E-6	357.16	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>4.134E-5</i>	<i>1</i>	<i>4.134E-5</i>	<i>1569.90</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>2.817E-9</i>	<i>1</i>	<i>2.817E-9</i>	<i>0.11</i>	<i>0.7569</i>
<i>AB</i>	<i>3.025E-9</i>	<i>1</i>	<i>3.025E-9</i>	<i>0.11</i>	<i>0.7484</i>
<i>A²</i>	<i>5.175E-6</i>	<i>1</i>	<i>5.175E-6</i>	<i>196,49</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B²</i>	<i>6.135E-9</i>	<i>1</i>	<i>6.135E-9</i>	<i>0.23</i>	<i>0.6497</i>
Resíduo	1.317E-7	5	2.634E-8	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>1.316E-7</i>	<i>3</i>	<i>4.387E-8</i>	<i>1316.10</i>	<i>0.0008</i>
<i>Erro puro</i>	<i>6.667E-11</i>	<i>2</i>	<i>3.333E-11</i>	-	-
Total	4.716E-5	10	-	-	-

Na *Tabela A11* e na *Tabela A12* apresentam-se as análises das variâncias dos parâmetros α e F_L , respectivamente. Visualiza-se que somente o fator temperatura é estatisticamente significativo, contribuindo com 83,78% para α e 78,40% para F_L .

Novamente observa-se semelhança de somente sofrer influência do fator temperatura e não sofrer influencia significativa da interação A^2 .

Tabela A11: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta α , para o soluto diclofenaco de potássio.

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	156.64	5	31.33	39.81	< 0.0005
<i>A – Temperatura</i>	<i>131.23</i>	<i>1</i>	<i>131.23</i>	<i>166.78</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>2.817E-3</i>	<i>1</i>	<i>2.817E-3</i>	<i>3.58E-3</i>	<i>0.9546</i>
<i>AB</i>	<i>8.100E-3</i>	<i>1</i>	<i>8.100E-3</i>	<i>0.01</i>	<i>0.9231</i>
A^2	24.37	1	24.37	30.97	0.0026
B^2	0.12	1	0.12	0.15	0.7175
Resíduo	3.93	5	0.79	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>1.75</i>	<i>3</i>	<i>0.58</i>	<i>0.53</i>	<i>0.7033</i>
<i>Erro puro</i>	<i>2.18</i>	<i>2</i>	<i>1.09</i>	-	-
Total	160.57	10	-	-	-

Tabela A12: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta F_L , para o soluto diclofenaco de potássio.

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	1.722E-3	5	3.444E-4	47.01	< 0.0003
<i>A – Temperatura</i>	<i>1.350E-3</i>	<i>1</i>	<i>1.350E-3</i>	<i>184.27</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>0.00</i>	<i>1</i>	<i>0.00</i>	<i>0.00</i>	<i>1.0000</i>
<i>AB</i>	<i>0.00</i>	<i>1</i>	<i>0.00</i>	<i>0.00</i>	<i>1.0000</i>
A^2	3.366E-4	1	3.366E-4	45.94	0.0011
B^2	7.018E-7	1	7.018E-7	0.096	0.7694
Resíduo	3.663E-5	5	7.326E-6	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>2.596E-5</i>	<i>3</i>	<i>8.655E-6</i>	<i>1.62</i>	<i>0.4032</i>
<i>Erro puro</i>	<i>1.067E-5</i>	<i>2</i>	<i>5.333E-6</i>	-	-
Total	1.759E-3	10	-	-	-

As análises das variâncias referentes às respostas t_{eq} e $t_{1/2}$ estão nas tabelas A13 e A14, respectivamente. Mais uma vez observa-se que somente o fator temperatura e suas interações, quando houver, é estatisticamente significativo contribuindo com 99,99% para t_{eq} e com 99,93% para $t_{1/2}$. Neste sistema, para a resposta $t_{1/2}$, um modelo linear é mais adequado em relação à um modelo quadrático. Todas as outras respostas o modelo quadrático é mais adequado.

Tabela A13: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta t_{eq} , para o soluto diclofenaco de potássio.

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	4.637E7	5	9.273E6	6.460E5	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>4.636E7</i>	<i>1</i>	<i>4.636E7</i>	<i>3230E6</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>32.67</i>	<i>1</i>	<i>32.67</i>	<i>2.28</i>	<i>0.1918</i>
<i>AB</i>	<i>81.00</i>	<i>1</i>	<i>81.00</i>	<i>5.64</i>	<i>0.0635</i>
<i>A²</i>	<i>6616.43</i>	<i>1</i>	<i>6616.43</i>	<i>460,93</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B²</i>	<i>0.028</i>	<i>1</i>	<i>0.028</i>	<i>1.956E-3</i>	<i>0.9664</i>
Resíduo	71.77	5	14.35	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>71.77</i>	<i>3</i>	<i>23.92</i>	-	-
<i>Erro puro</i>	<i>0.000</i>	<i>2</i>	<i>0.000</i>	-	-
Total	4.637E7	10	-	-	-

Tabela A14: Tabela de resultados da ANOVA para o planejamento composto central 3^2 , para a resposta $t_{1/2}$, para o soluto diclofenaco de potássio.

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor de F	Valor de P
Modelo	1.387E5	2	69372.75	370.18	< 0.0001
<i>A – Temperatura</i>	<i>1.386E5</i>	<i>1</i>	<i>1.386E5</i>	<i>739.71</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B – Volume</i>	<i>121.50</i>	<i>1</i>	<i>121.50</i>	<i>0.65</i>	<i>0.4440</i>
Resíduo	1499.23	8	187.40	-	-
<i>Falta de ajuste</i>	<i>1499.23</i>	<i>6</i>	<i>249.87</i>	-	-
<i>Erro puro</i>	<i>0.000</i>	<i>2</i>	<i>0.000</i>	-	-
Total	1.402E5	10	-	-	-

Desta forma podemos afirmar que para todas as respostas avaliadas para a liberação de diclofenaco de potássio, sofre forte influência da Temperatura sendo a variação de volume um fator que não influencia na liberação.

Assim tanto a liberação da vitamina B12 quanto a liberação do diclofenaco de potássio são influenciado quase que unicamente pela temperatura sendo esta análise estatística uma ferramenta que comprova este comportamento.