

HIDROGÉIS POLIMÉRICOS RETICULADOS POR CICLOS TÉRMICOS DE CONGELAMENTO/DESCONGELAMENTO

Maria J. A. Oliveira*, Kiriaki M. S. Rodrigues, Duclerc F. Parra, Ademar B. Lugão.
Instituto de Pesquisas Energia Nucleares IPEN-CNEN/SP, Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA), Av Professor Lineu Prestes, 2242, 05508-900, São Paulo, Brasil.
E-mail address of main author: mariajho@yahoo.com.br

RESUMO

Membranas hidrofílicas à base de hidrogéis são membranas compostas por sistemas poliméricos reticulados, com capacidade de reter grande quantidade de água ou fluidos biológicos. Essas membranas de hidrogéis podem ser obtidas pelo processo de radiação ionizante, reticulação química na presença de temperatura e catalisador ou por ciclos térmicos de congelamento e descongelamento. As membranas poliméricas foram sintetizadas com poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PVP) poli(álcool vinílico) (PVAI) variando-se a concentração de poli(glicol etilênico) (PEG). Foram obtidas pelo processo térmico por 10 horas à temperatura ambiente e 14 horas a -24 °C, completando-se um ciclo e sendo este ciclo repetido por dez dias até completar a reticulação. Foram usadas as caracterizações de intumescimento, fração gel, análise termogravimétrica (TGA), análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC), citotoxicidade, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia no infravermelho (IR). O teste de citotoxicidade mostrou comportamento semelhante ao controle negativo, ou seja, as membranas testadas não apresentaram toxicidade.

Palavra-chave: Hidrogéis, congelamento/descongelamento, PVAI, PVP.

INTRODUÇÃO

Hidrogéis são membranas hidrofílicas poliméricas que apresentaram potencialidades para serem aplicadas nas mais diversas áreas. São membranas compostas por sistemas poliméricos que podem ser reticulados por irradiação gama^[1], processo térmico e reticulação química, com capacidade de reter grande quantidade de água ou fluidos biológicos. Esses hidrogéis podem expandir-se pela absorção de água, por intumescimento até o estado de equilíbrio conservando-se a sua função^[2].

A escolha de um polímero para um sistema de liberação de fármaco depende de vários fatores que correlacionam às propriedades do princípio ativo, dos polímeros e demais excipientes que irão fazer parte da formulação. Devido as suas diversas aplicações e funcionalidades^[3].

Além disso, o mecanismo pretendido de liberação do fármaco também interfere nessa escolha. Para se chegar ao mecanismo desejado de liberação do fármaco, os polímeros (sintéticos) podem ter suas propriedades moldadas ou pode-se trabalhar com uma mistura de polímeros que apresentam propriedades diversas e, com a modificação da proporção destes na formulação, pode-se chegar ao sistema de liberação que satisfaça às necessidades do formulador. Avanços futuros na ciência dos polímeros deverão ser baseados em modificações de suas propriedades químicas e físicas, além de novas combinações de copolímeros com objetivos e componentes capazes de liberar uma ampla variedade de agentes bioativos de forma programada e controlada. Um avanço na modificação desses polímeros que tem se destacado é a síntese de hidrogéis poliméricos.

Foram sintetizadas membranas hidrofílicas à base de poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PVP) poli(álcool vinílico) (PVAI) e poli(glicol etilênico), por reticulação física usando-se ciclos térmicos de congelamento e descongelamento. Esses processos térmicos foram repetidos por dez ciclos de 14:00h à temperatura de -24°C e 10:00h à temperatura ambiente^[4], para incorporação e liberação do fármaco glucantime utilizado como a droga de primeira escolha no tratamento da Leishmaniose. Essas membranas por serem conhecidas por sua inércia química e propriedades biomédicas adequadas, (reportadas por Peppas et al) tem potencialidade para serem utilizadas como recobrimento em ferimentos de queimaduras, próteses vasculares, membranas artificiais cartilaginosas para hemodiálise, uso veterinário, agricultura, liberação de fármaco, entre outras aplicações^[5].

A poli(N-vinil-2-pirrolidona) pode interagir fortemente por interações dipolo-dipolo, ou ainda por interações do tipo ligações de hidrogênio já que é uma base forte de Lewis, podendo atuar como acceptor de prótons. Esta característica permite a miscibilidade desses polímeros que atuam como doadores de prótons ou possuam grupos polares capazes de interações dipolo-dipolo tais como o poli(álcool vinílico), poli(éter de bisfenol A) entre outros. Membranas de PVP/PVAI compõem sistemas de interesse farmacêutico.

A Leishmaniose cutânea é causada por protozoário do gênero Leishmania transmitida por mosquitos flebotomídeos, caracteriza-se clinicamente por febre prolongada, palidez, emagrecimento e feridas de difícil cicatrização na pele. Vários reservatórios têm sido identificados. Na área urbana, o cão é a principal fonte de infecção; no ambiente silvestre destaca-se as raposas e os marsupiais. O homem

insere-se no ciclo epidemiológico como hospedeiro eventual, mas em áreas epidêmicas pode ser considerado reservatório, podendo ocorrer à transmissão homem-vetor-homem, sem necessidade de canídeos ^[6]. A liberação controlada de fármaco aplicado a leishmaniose representaria um progresso na terapia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Poli(álcool vinil) (PVAI) (Mw = 85000, grau de hidrólise 98,4%) Celvol™ 325 fornecido pela *Dermet Agekem*. Poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PVP) *Kollidon 90F* proveniente da *Basf*, Poli(etileno glicol) (PEG 300) fornecido pela *Oxiten*.

A síntese de hidrogéis foi executada com solução aquosa de 10% PVAI e 10% PVP. Em seguida foram preparadas três diferentes formulações pela adição do PEG nas proporções de 0,5%; 2,0 % e 4,0 %, em soluções de PVAI / PVP, seguida de aquecimento por 5 minutos a 85 °C. A formulação foi colocada em placa de *Petri*, 35 mL para a formação da matriz de hidrogel, por meio de ciclos de congelamentos e descongelamentos, manteve-se à temperatura ambiente por 10 horas em seguida congelando-se a -24 °C, durante 14 horas completado-se um ciclo. Este ciclo foi repetido por dez vezes até completar a reticulação física.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Intumescimento

Na reticulação foram mantidas as concentrações do PVAI e PVP variando-se apenas o PEG em 0,5%; 2,0% e 4,0%. As matrizes de hidrogéis físicos foram obtidas por ciclos de congelamentos e descongelamentos, no total de dez ciclos. Como pode ser observado na figura 1, o perfil de intumescimento das membranas físicas obtidos por ciclos de congelamentos e descongelamentos revelam um intumescimento rápido nas primeiras cinco horas e após esse intervalo o intumescimento é lento até obter-se um equilíbrio constante. Na matriz contendo 2,0% de PEG observou-se um menor intumescimento se comparada às demais. Os valores de intumescimento dos hidrogéis obtidos com PVAI+PVP 0; 0,5; 2,0 e 4,0% de PEG são respectivamente, 105,0; 76,0; 54,0 e 74,1%. Os dados indicam que há um limite de concentração do PEG que altera a reticulação física das membranas e acima dessa concentração há uma tendência a difundir-se para fora do hidrogel.

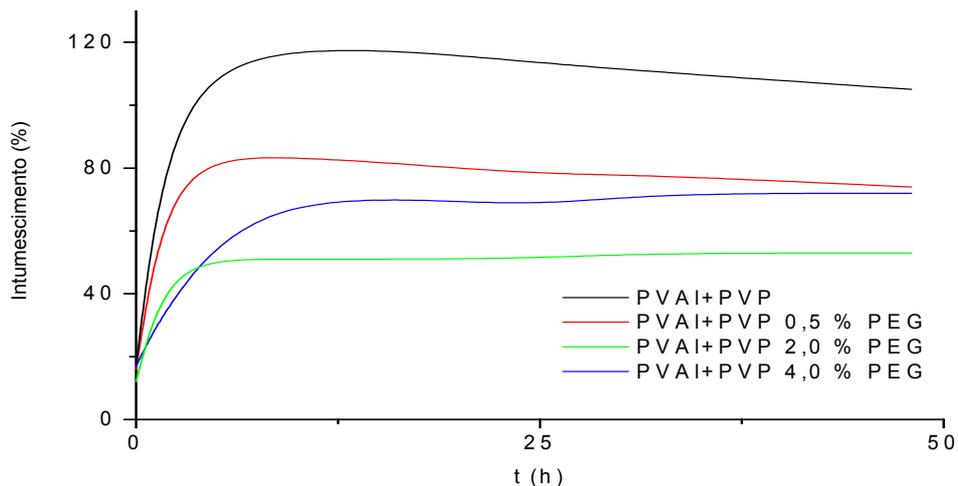


FIGURA 1 – Curva de intumescimento das matrizes de hidrogéis obtidas por ciclo térmico compostas de PVAI+PVP com variação da concentração de PEG.

Fração gel

Na tabela 1 estão apresentados os resultados de fração gel das amostras onde matriz de hidrogel contendo 2,0% de PEG apresenta maior porcentagem de gel, se comparado às concentrações 0,5 e 4,0%, corroborando com a menor taxa de intumescimento. Acima dessa concentração de PEG observa-se que a porcentagem de gel físico não aumenta.

TABELA 1 – Resultados da Fração de gel (%) das matrizes de hidrogéis PVAI + PVP conforme a variação da concentração de PEG, obtidas por reticulação térmica.

Membranas	Fração gel (%)
PVAI + PVP	10,1
PVAI + PVP + 0,5 % PEG	23,5
PVAI + PVP + 2,0 % PEG	40,7
PVAI + PVP + 4,0 % PEG	32,7

Análise termogravimétrica (TGA / DTGA)

Foi observado que o PVAI apresenta uma curva com dois eventos de decomposição, o primeiro ocorrendo por volta de 272,3°C, associado a perda de água por desidroxilação e o segundo por volta de 408,3°C, atribuído à decomposição

da cadeia principal do PVAI. Para o PVP observa-se um evento relacionado à degradação com temperatura de início de decomposição em 410,4°C. Os dois eventos de decomposição que são observados nas membranas de PVAI+PVP+PEG, referem-se às decomposições de PVAI e PVP, respectivamente, ilustradas na figura 2 e 3.

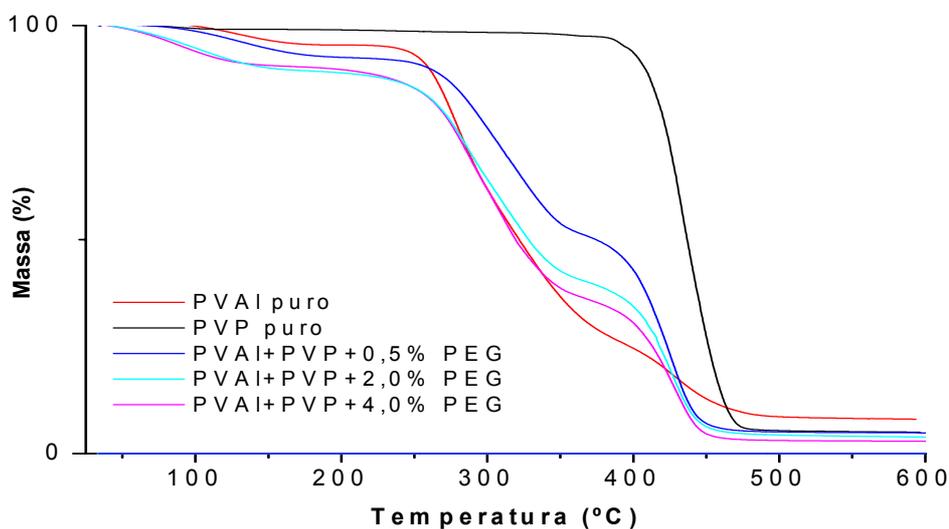


FIGURA 2 – Curvas TGA dos hidrogéis obtidos por ciclo térmico compostas por PVAI+PVP variando-se a concentração de PEG.

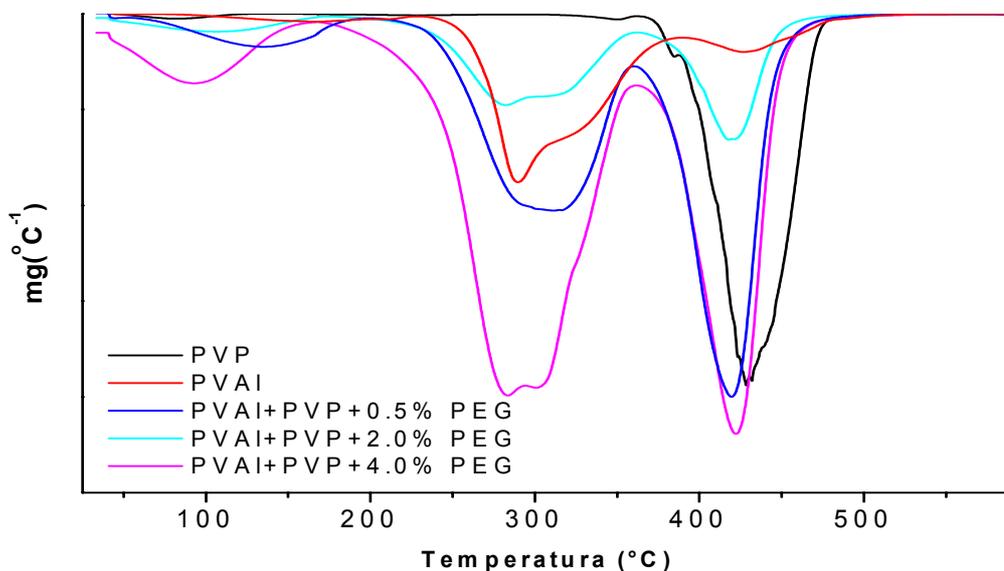


FIGURA 3 – Curvas DTGA dos hidrogéis obtidos por ciclo térmico compostas por PVAI+PVP variando-se a concentração de PEG.

Como mostra a tabela 2, ainda ficou uma fração de água representada pelo primeiro evento que se dá por volta dos 100 °C, apesar da prévia desidratação. Em todas as mostras houve resíduo carbonáceo na atmosfera inerte.

TABELA 2 Apresenta os valores de T_{onset} e o teor de resíduos das membranas de hidrogéis reticuladas por ciclos térmicos 25 kGy/h.

Membranas	1ª T (°C) (Água)	2ª T (°C)	3ª T (°C)	Resíduo (%)
PVAI puro	-	272,3	408,3	5,9
PVP puro	-	-	410,4	5,9
PEG 300	-	257,7	-	-
PVAI + PVP + 0.5% PEG	100	277,2	406,4	5,0
PVAI + PVP + 2.0% PEG	100	258,2	408,4	4,0
PVAI + PVP + 4.0% PEG	100	257,3	408,3	3,0

Análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Observa-se a temperatura de transição vítrea a 150 °C, para o PVP e a essa temperatura há também contribuição do evento de desidratação intrínseco do PVAI. O PVAI puro apresenta os valores de T_g a 74 °C, da parte amorfa e um pico a 219°C, referente à fusão da fase cristalina presente no PVAI. Como resultado de calorimetria por DSC tem-se os picos das matrizes de hidrogéis PVAI+PVP como observado na figura 4. Variando-se as concentrações de PEG, observou-se um deslocamento da temperatura apresentando deformação dos picos. Os valores da transição vítrea para cada composição analisada foram: 180; 170 e 165 °C respectivamente para PVAI+PVP 0,5%; 0,2% e 4,0% de PEG.

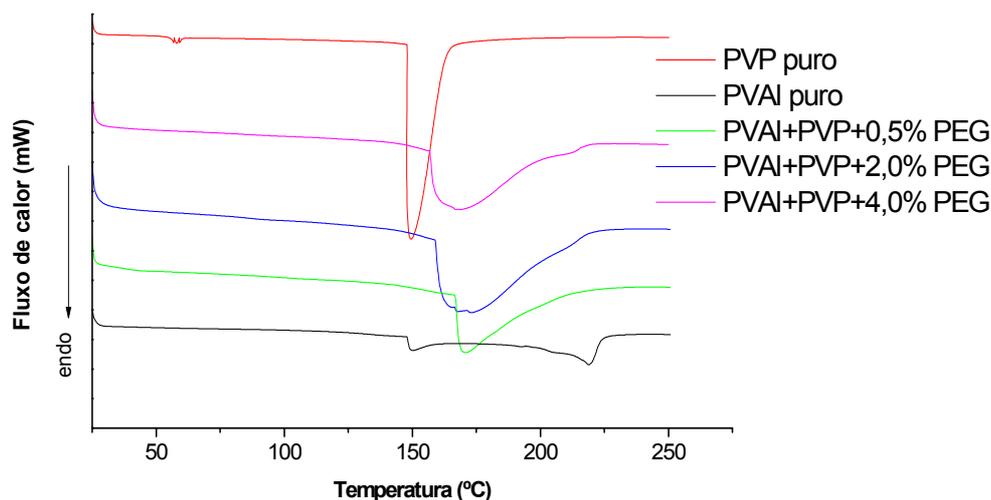


FIGURA 4 – Curvas de DSC das matrizes de hidrogéis compostas por PVAI + PVP obtidos por ciclos térmicos variando-se a concentração de PEG.

Análise de infravermelho (IR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho, como podem ser observados na figura 5, apresentam uma banda larga na região de 3500 cm^{-1} atribuída ao estiramento do O-H. Observa-se para a matriz de hidrogel com 2,0% de PEG um pico mais alargado na região $3500\text{ a }3000\text{ cm}^{-1}$ indicando a interferência do PEG. A presença de picos na região $1070 - 1095\text{ cm}^{-1}$ é relativo ao estiramento do C-O-C do PVAI sobreposto ao sinal do PEG (C-O-C) e 1666 cm^{-1} é atribuído ao estiramento C=O do PVP. Os espectros não dão evidência da interação química do PEG, PVP e PVAI, indicam apenas a presença dos componentes nas membranas.

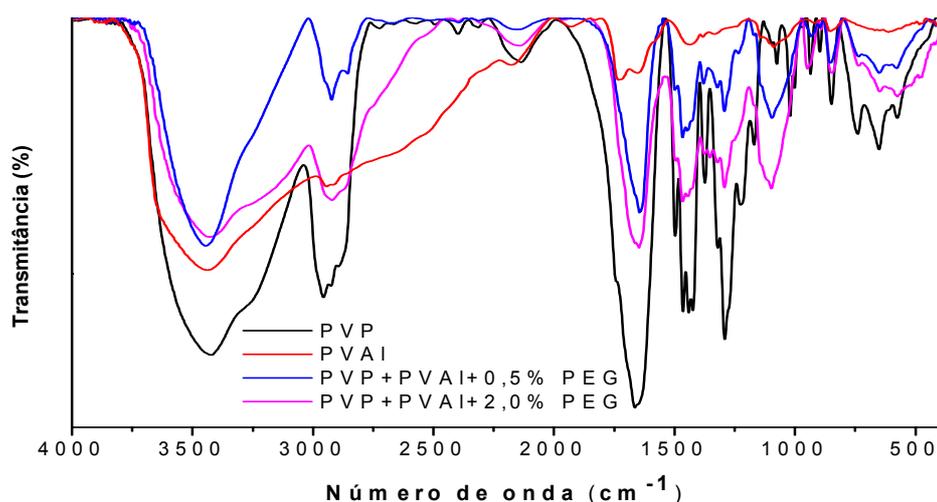


FIGURA 5 – Espectros de absorção na região do infravermelho das membranas de hidrogéis obtidas por ciclo térmico variando-se a concentração de PEG.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias das membranas de hidrogéis PVAI+PVP obtidas por reticulação térmica variando-se a concentração de PEG são ilustradas na figura 6. A micrografia na superfície de fratura apresenta homogeneidade com perfil semelhante de rugosidade para a matriz 0,5% quanto para a matriz 2,0% PEG.

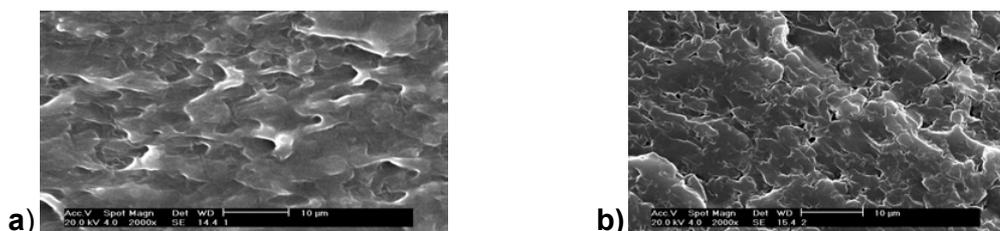


FIGURA 6 – Micrografias em MEV superfície de fratura (2000x) das matrizes de hidrogéis obtidas por reticulação térmica PVAI+PVP variando-se a concentração de PEG (a) 0,5% (b) 2,0%.

Membranas de hidrogéis obtidas por síntese térmica

A Figura 7 ilustra a matriz de hidrogéis preparados por ciclo térmico como um material flexível e macio. A cor esbranquiçada é típica da cristalização do PVAI.



FIGURA 7 – Fotos das matrizes de hidrogéis sintetizadas com PVP+PVAI+PEG por ciclos térmicos.

Citotoxicidade

O teste de citotoxicidade mostrou comportamento semelhante ao controle negativo, ou seja, as membranas testadas como podem ser observadas na figura 8. Desta forma, é possível afirmar que os hidrogéis sintetizados por reticulação térmica são, portanto, caracterizados como não-citotóxicos.

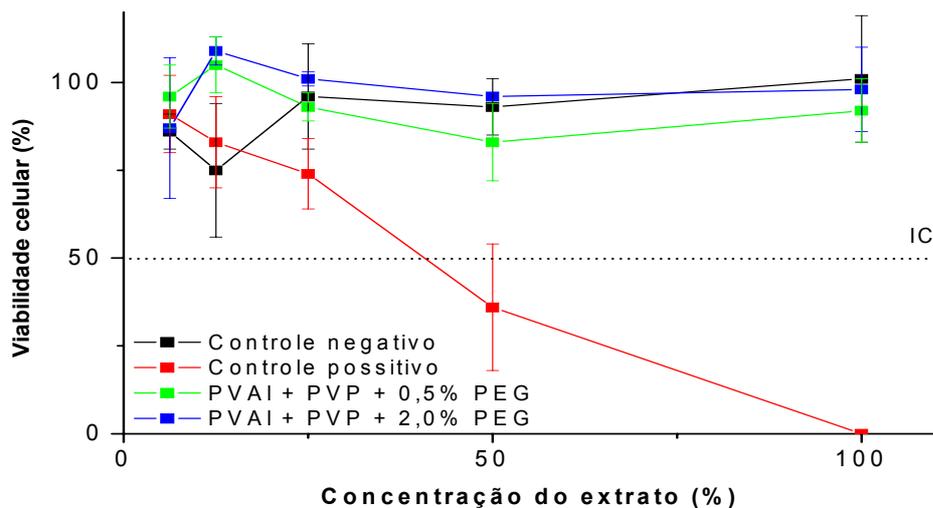


FIGURA 8 – Curvas de viabilidade celular das matrizes de hidrogéis pela incorporação do vermelho neutro, obtidos por ciclos térmicos.

CONCLUSÃO

Observou-se que a membrana de hidrogel sintetizada com a concentração de 2,0% de PEG apresenta maior reticulação, comparando-se com as membranas de concentrações 0,5 e 4,0%, confirmado pelo aumento da fração gel e pelo baixo intumescimento. Acima de 2,0% de PEG há interferência na reticulação da membrana. As membranas apresentam-se maleáveis, flexíveis e não apresentam toxicidade. Portanto, são potencialmente utilizáveis para aplicações como liberação de fármaco em aplicações biológicas.

AGRADECIMENTOS:

FAPESP 06/53634-3, CNPq, CAPES, IPEN-CNEN/SP

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- 1- BAVARESCO, V. P.; MACHADO, L. D. B.; ZAVAGLIA, C. A. C.; REIS, M. C. Caracterização Mecânica de Hidrogéis de PVAI para serem utilizados como cartilagem artificial reticulados por irradiação. **Rev. Brás. Pesq. Des.**, v. 4(3) parte 2. p. 1679-1681, 2002.
- 2- BENAMER, S.; MAHLOUS, M.; BOUKRIF, A. MANSOUURI, B.; YUCEF, S. L., Synthesis and Characterisation of Hydrogels Based on Poly(vinyl pyrrolidone), **NIMB** 248, 284-290, 2006.

- 3- PEPPAS, N. A. "Hydrogels in Medicine and Pharmacy", vol. III, CRC PRESS **Boca Raton**, 1987.
- 4- HASSAN, C. M., PEPPAS, N. A., Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods, **Polymer Science**, USA, 2000.
- 5- LANGER, R.; PEPPAS, N. A., Present and Future Applications of Biomaterials in Controlled Drug Delivery Systems, **Biomaterials**, 2, p 201-214, 1981.
- 6- **BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE**, Ministério da Saúde, Disponível em 07 de julho de 2008, <<http://bvsm.sau.gov.br/html/pt/dicas/126leishmania>>.
- 7 - PEPPAS et. Al, Biopolymeres PVA Hydrogels Anionic Polimerisations Nanocomposites, **Polymer Science**, Springer, 2000.

ABSTRACT

Hydrophilic membranes based on hydrogels contain crosslinked polymer with the capacity to retain great amount of water or biological fluids. The hydrogel membranes can be processed by ionizing radiation, chemical crosslinking in the presence of acids and physically by freezing/thawing thermal cycles. These membranes were synthesized with poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) (PVP), poly(vinyl alcohol) (PVA) and different poly(ethylene glycol) (PEG) concentrations. The hydrogels were processed by thermal cycles of 10 hours at room temperature and in the sequence at -24 °C for 14 hours, this cycle were repeated for ten days to obtained the crosslinked membrane. The hydrogel membranes were characterized by water uptake, gel fraction, Thermogravimetric measurement (TG), Differential Scanning Calorimeter (DSC), cytotoxicity, scanning electronic microscopy (SEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The cytotoxicity test demonstrated the similar behavior to negative control, which means no toxicity for the hydrogels produced.

Key-words: Polymeric hydrogels crosslinked by freezing/thawing thermal cycles.